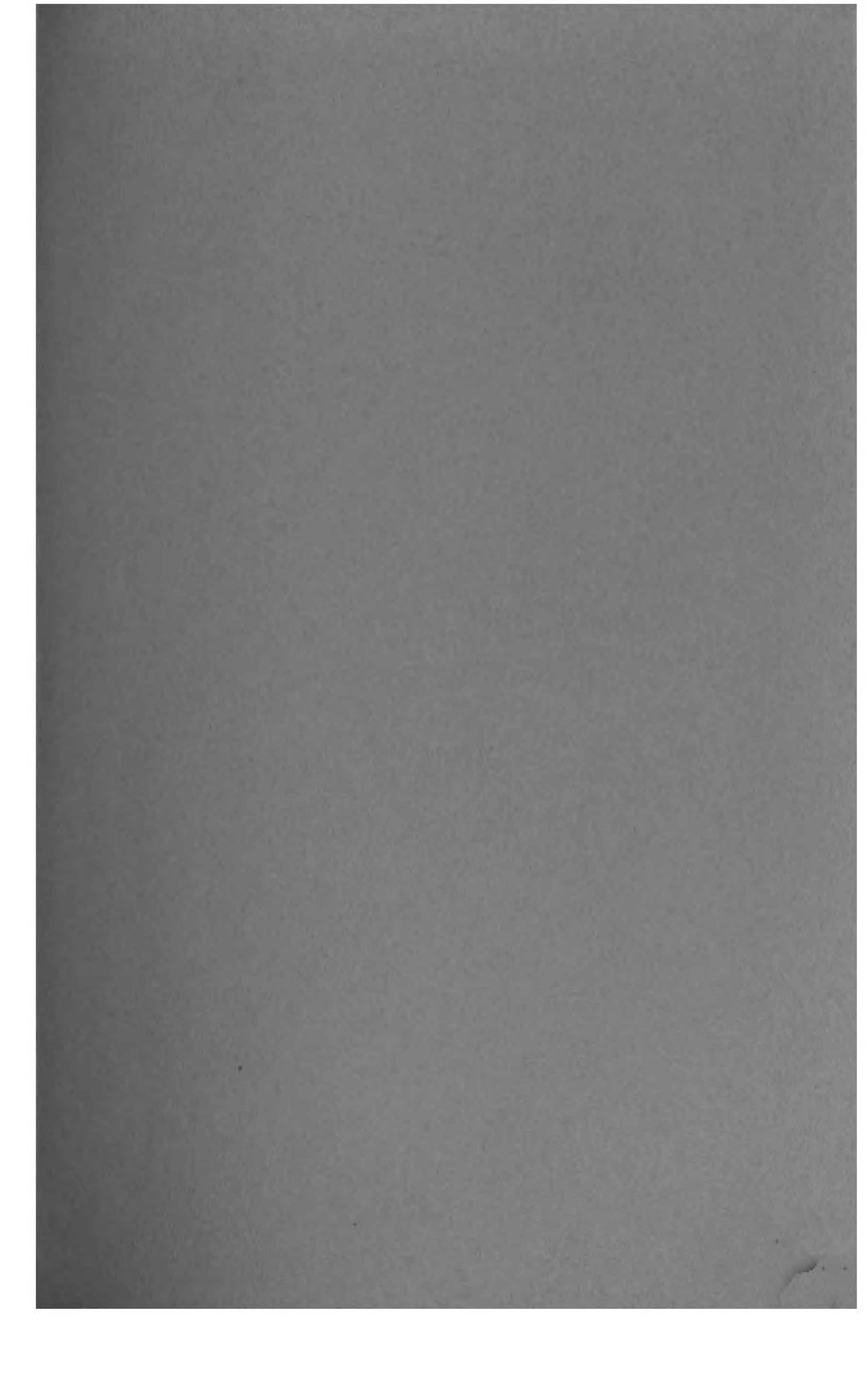
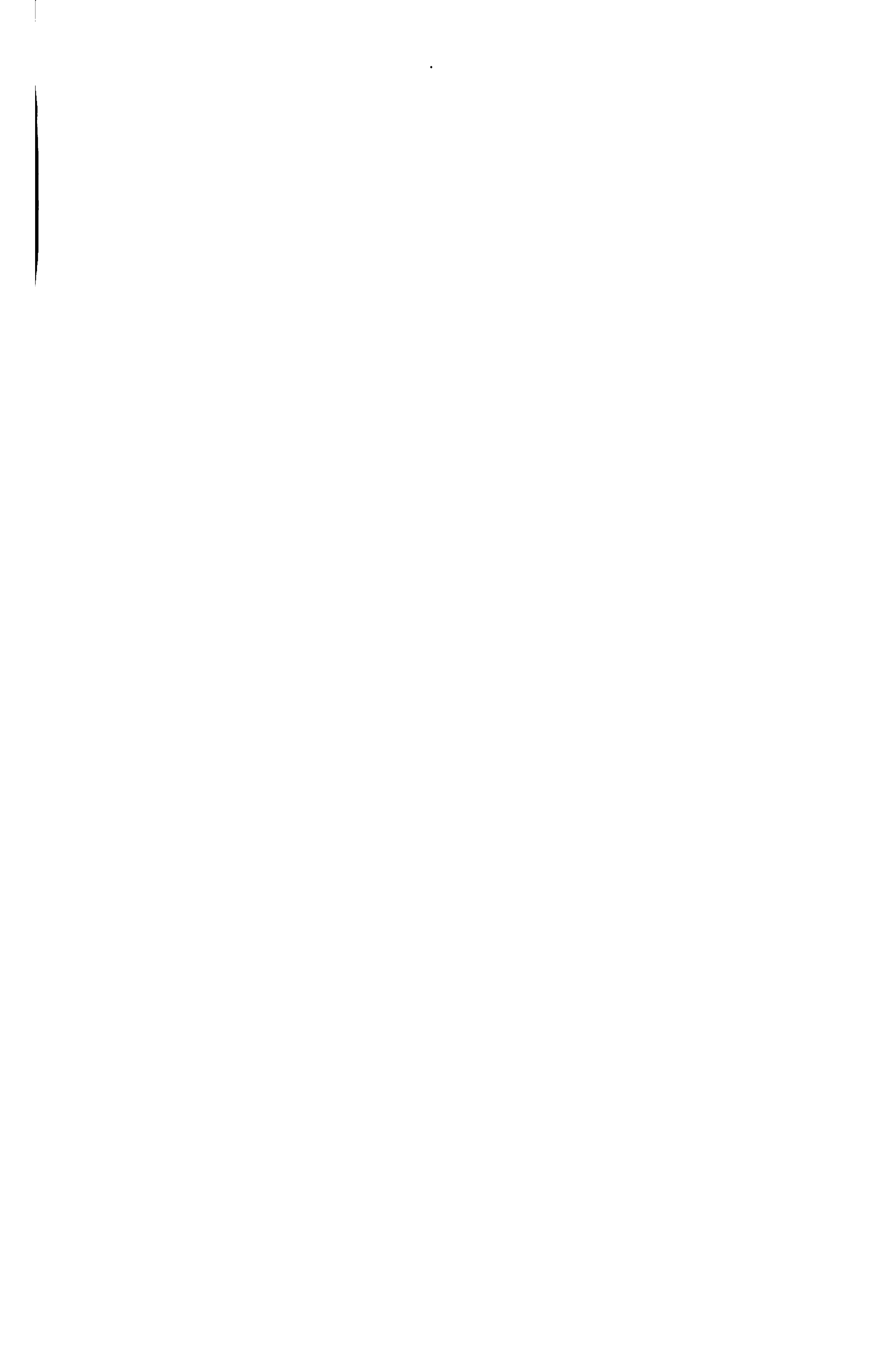








Biochemische Zeitschrift

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertzweiundfünfzigster Band

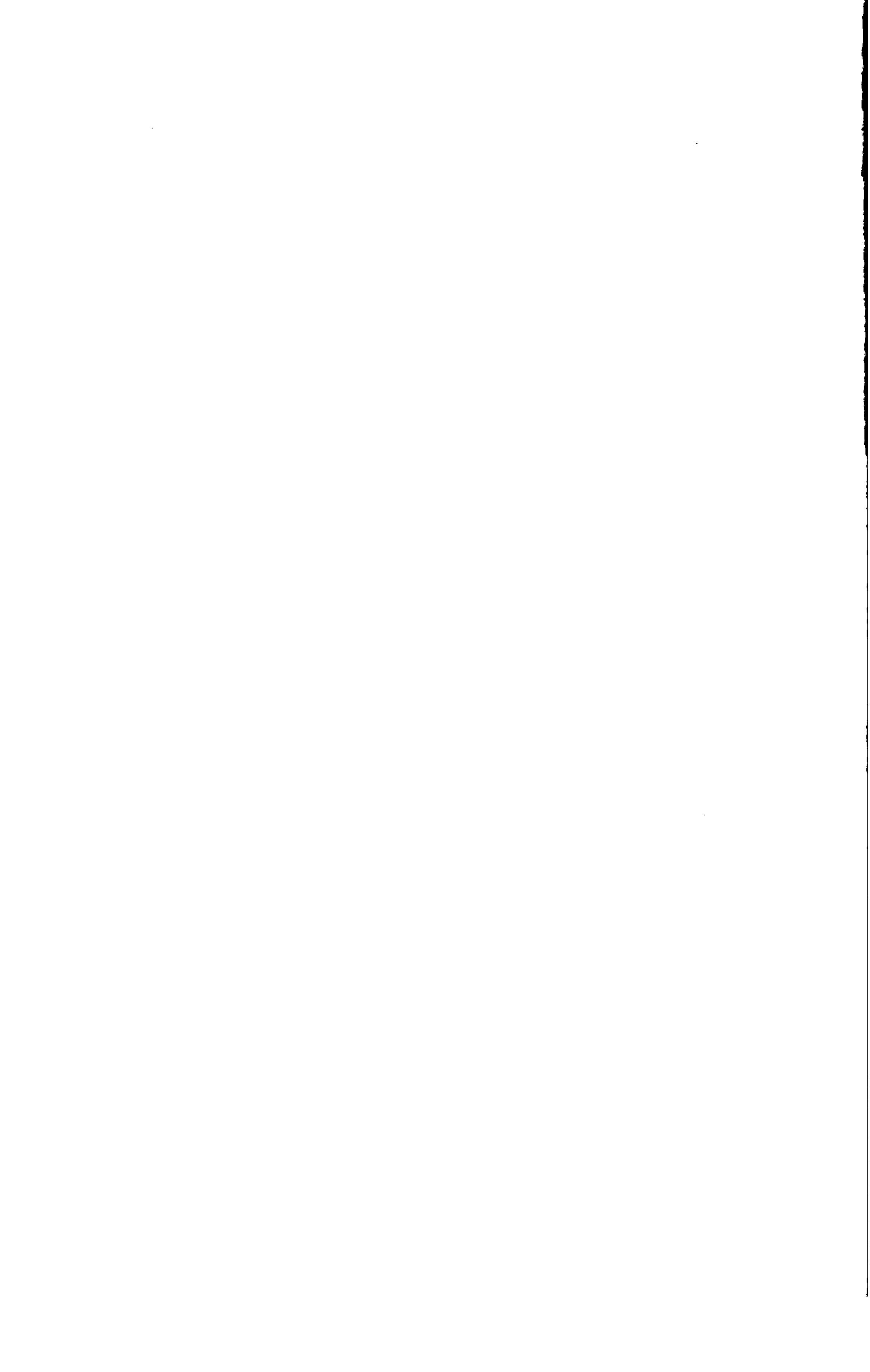


Berlin
Verlag von Julius Springer
1924

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn Akt.-Ges., Braunschweig

Inhalt.





Biochemische Zeitschrift

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertzweiundfünfzigster Band

Erstes und zweites Heft

Ausgegeben am 18. Oktober 1924



Berlin

Verlag von Julius Springer

1924

Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber,
Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,
zu richten.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Doch bittet der Verlag, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiexemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse dringend gebeten, sich, wenn irgend möglich, mit der kostenfrei zur Verfügung gestellten Anzahl zu begnügen, und falls mehr Exemplare unbedingt erforderlich sind, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen, um unliebsame Überraschungen zu vermeiden.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

152. Band. **Inhaltsverzeichnis.** Heft 1/2.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über den Ammoniakgehalt und über die Ammoniakbildung im Blute. I[1]).

Von

J. K. Parnas und J. Heller.

[Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Lwów (Lemberg).]

(Eingegangen am 7. August 1924.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

I.

In anderem Zusammenhang wurde eine Methode zur Ammoniakbestimmung ausgearbeitet, die es möglich machte, kleinste Ammoniakmengen bei niedriger Temperatur schnell aus Flüssigkeiten zu isolieren. Als gelegentlich die Literatur durchgesehen wurde, die sich auf den Ammoniakgehalt des Blutes und der Gewebe bezieht, regte das widerspruchsreiche Bild des Gegenstandes seine Neubearbeitung an. Bei dieser Untersuchung verschob sich das Interesse am Ammoniakgehalt des Blutes allmählich auf die Frage der Ammoniakbildung im Blute, welche den Hauptgegenstand dieser Arbeit darstellt.

Die Entwicklung und der Stand der Frage nach dem Ammoniakgehalt des Blutes ist in der nachfolgenden tabellarischen Übersicht wiedergegeben, und im Anschluß an diese wollen wir nur diejenigen Arbeiten kurz besprechen, welche in der Entwicklung der Frage Wendepunkte darstellen[2]).

Nencki und *Zaleski* (21) haben den Ammoniakgehalt des Blutes bekanntlich zuerst systematisch untersucht, und zwar im Zusammenhang mit Untersuchungen — mit *Pawlow* und seiner Schule — über die Harnstoffbildung in der Leber. Ihr Befund, daß im Pfortaderblut viel mehr Ammoniak enthalten ist als im Blute anderer Venen und Arterien, blieb auch dann bestehen, als die ursprüngliche Methode nach den

---

[1]) Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden zum Teil in der Sitzung vom 23. Juni 1924 der Polnischen Biologischen Gesellschaft (Polskie Towarzystwo biologiczne), Abteilung Lwów, mitgeteilt; vgl. C. r. Soc. biol. **91**, 706, 1924.

[2]) In der Tabelle durch fetten Druck hervorgehoben.

Tab

Nr.	Verfasser	Tierart	Blutart	Blutmenge in der Analyse g bzw. ccm
1	**Nencki und Zaleski (1901)** .	Hund	arteriell	100
	dieselben	„	V. portae	100
2	*Horodynski, Salaskin* und *Zaleski* (1902)	„	arteriell	100
	dieselben	„	V. portae	100
3	**O. Folin (1902—1903)** . . .	„	arteriell	50
4	*Wolff* und *Mariott* (1910) . .	Rind	„	25
5	*Carlson* u. *Jacobson* (1909–1910)	Katze	„	50
	dieselben	Fuchs	„	50
6	*Medwedew* (1911)	Hund	„	10
	derselbe	„	arteriell nach 24 Std. bei 38 °C	10
7	**Folin und Denis (1912)** . . .	Katze	arteriell	10
	dieselben	„	V. mesenterica, Ileum	10
	dieselben	„	„ „ Colon	1
	dieselben	„	V. portae	1
8	*Mathews* und *Miller* (1913) .	Hund	arteriell	1
9	*Denis* (1913—1914)	Fische	—	1
10	*Jacobson* (1914)	Katze	arteriell	15–
11	*Rohde* (1915)	Hund	„	1
	derselbe	„	„	1
	derselbe	„	Vividialysat	–
12	*Gettler* und *Baker* (1915). . .	Mensch	venös	5–
13	*J. Bang* (1916)	Kaninchen	—	–
14	*Henriques* und *Hansen* (1917)	Hund	venös	2
	dieselben	Ziege	„	2
	dieselben	Katze	arteriell	2
	dieselben	Kaninchen	„	2
	dieselben	Mensch	venös	2
15	*Morgulis* und *Jahr* (1919) . .	„	„	2
16	*Barnett* (1917)	„	„	–
	derselbe	„	venös nach 30 Minuten	–
17	**Nash und Benedict (1921)** .	Hund	arteriell	[illegible]
	dieselben	„	arteriell nach 60 Minuten	–
	dieselben	„	„ „ 150 „	–
	dieselben	„	V. cava	–
	dieselben	„	V. renalis	–
18	*Gad Andersen* (1921)	Mensch	venös	[illegible]
19	*Russel* (1923)	„	„	–
20	*Myers* (1920)	Walfische	3 bis 4 Std. n. d. Tötung	–

Verfahren	Dauer der Isolierung	Alkalizusatz	Temperatur °C	Ammoniak in 100 ccm Blut Minimum mg	Maximum mg	Mittelwert mg
Vakuumdestillation	5h	MgO	35	0,28	0,3	—
"	5	MgO	35	1,01	1,08	—
"	5	MgO	35	0,21	0,65	0,41
"	5	MgO	35	1,01	2,44	0,57
Lüftung	5	Soda NaCl	0	0,5	0,6	—
Enteiweißung, Destillation	40′	Soda 2 N (10 Proz.)	40	1,7	5,96	—
Lüftung	5h	Soda NaCl	0	—	1,57	—
"	5	Soda NaCl	0	—	2,39	—
[Va]kuumdestillation mit Alkohol	45′	Soda NaCl	42	0,47	0,64	0,56
" " "	45	Soda NaCl	42	—	1,83	—
Lüftung	20—30′	Soda u. Kaliumoxalat	0	0,03	0,08	—
"	20—30	Soda u. Kaliumoxalat	0	0,05	0,77	—
"	20—30	Soda u. Kaliumoxalat	0	0,44	1,60	—
"	20—30	Soda u. Kaliumoxalat	0	0,10	0,35	—
"	20—30	Soda u. Kaliumoxalat	0	—	—	0,35
"	20—30	Soda u. Kaliumoxalat	0	1	5,5	—
"	4h	Soda NaCl	—	0,4	1,2	—
"	20′	Soda u. Kaliumoxalat	0	0,28	—	—
"	20	Soda u. Kaliumoxalat	—	0,72	—	—
"	—	—	—	0,18	0,30	—
"	20′	Soda u. Kaliumoxalat	—	0,4	1,1	0,51
Enteiweißtes Blut, Lüftung	—	—	—	0,81	1,27	—
Lüftung mit Alkoholzusatz	3h	Soda	—	0,21	0,44	0,32
" " "	3	Soda	—	0,16	0,29	0,22
" " "	3	Soda	—	—	—	0,16
" " "	3	Soda	—	0,20	0,42	0,30
" " "	3	Soda	—	0,10	0,48	0,31
[E]nteiweißtes Blut, Permutitadsorption des Ammoniaks	—	—	—	0,14	0,30	—
Lüftung	—	—	—	0,00	0,05	—
"	—	—	—	0,07	0,15	—
"	10′	K_2CO_3 und Kaliumoxalat	—	0,06	0,14	—
"	—	—	—	—	0,14	} bei Zimmertemper.
"	—	—	—	—	0,16	
"	—	—	—	0,03	0,16	—
"	—	—	—	0,09	0,28	—
[Ein]trocknen d. Blutes i. Luftstrom	30′	Alkalische Boratlösung	25	0,38	0,51	—
Lüftung	10	—	—	0,00	—	—
"	—	—	—	2,4	14	—

Literatur zu Tabelle 1.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 193, 1901. — 2) Ebendaselbst **35**, 246, 1902. — 3) Ebendaselbst **37**, 161, 1902 03. — 4) Diese Zeitschr. **26**, 165, 1910. — 5) Amer. Journ. of Physiol. **25**, 403, 1909 10. — 6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **72**, 410, 1911. — 7) Journ. of biol. Chem. **11**, 161, 527, 1912. — 8) Ebendaselbst **15**, 87, 1913. — 9) Ebendaselbst **16**, 389, 1913/14. — 10) Ebendaselbst **18**, 133, 1914. — 11) Ebendaselbst **21**, 325, 1915. — 12) Ebendaselbst **25**, 211, 1916. — 13) Diese Zeitschr. **72**, 144, 1916. — 14) Ebendaselbst **78**, 297, 1917; **80**, 297, 1918. — 15) Journ. of biol. Chem. **38**, 435, 1919. — 16) Ebendaselbst **29**, 459, 1917. — 17) Ebendaselbst **48**, 463, 1921. — 18) Ebendaselbst **51**, 367, 1922. — 19) Biochem. Journ. **17**, 72, 1923. — 20) Journ. of biol. Chem. **41**, 137, 1920. — In dieser Zusammenstellung sind Arbeiten nicht aufgenommen, die zum Teil historisch bedeutend sind, aber nur solche Werte enthalten, die infolge klargelegter methodischer Irrtümer nicht mehr aufrecht gehalten werden können, und solche Untersuchungen, die sich nur mit pathologischen Werten beschäftigen. Vgl.: 21) *Nencki* und *Zaleski*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **36**, 385, 1895; **37**, 26, 1896. — 22) *Biedl* und *Winterberg*, Arch. f. d. ges. Physiol. **88**, 140, 1901; Zeitschr. f. klin. Med. **36**, 389, 1899; Wien. klin. Wochenschr. 1897, S. 330. — 23) *Nencki-Pawlow* u. *Zaleski*, Arch. des Sc. biolog. **4**, 191, 1895. — Ferner *Hopkins* und *Denis*, Journ. of biol. Chem. **10**, 407, 1911; *Mac Callum* und *Voegtlin*, Journ. of exper. Med. **11**, 141, 1909. — Niedere Tiere: *Myers*, Journ. of. biol. Chem. **41**, 119, 1920.

Einwänden von *Biedl* und *Winterberg* (22) abgeändert wurde und zur Austreibung des Ammoniaks nicht mehr Calciumhydroxyd, sondern das schwach alkalische Magnesiumoxyd diente. Die Methode der Vakuumdestillation, die von *Nencki* und *Zaleski* angewandt wurde, diente später, mit kleinen Abänderungen, in Untersuchungen zahlreicher Forscher, die auch im wesentlichen zu Werten gelangten, welche mit den von *Nencki* und *Zaleski* (1), sowie *Horodynski*, *Zaleski* und *Salaskin* (2) gefundenen übereinstimmten.

Unter Anwendung einer ähnlichen Methode hat *Medwedew* (6) die Ammoniakbildung im Blute studiert. Seine Arbeit führte leider zu keinen bleibenden Resultaten, da die langwierige Methode den zeitlichen Verlauf entstellte und außerdem der Einfluß der Reaktion auf den Vorgang nicht bemerkt worden ist. Auch ist bereits von *Henriques* und *Hansen* (l. c., S. 2, 1917) bemerkt worden, daß die Bestimmungsmethode, deren sich *Medwedew* bediente, wenig empfindlich war.

Eine neue Wendung nahm die Frage des Blutammoniaks im Jahre 1912, als *Folin* und *Denis* (7) ihre Untersuchungen veröffentlichten, bei denen sie sich der zeitlich abgekürzten, auf kleine Blutmengen angewandten Lüftungsmethode von *Folin* (3) bedienten. 5 bis 10 ccm Blut wurden mit einer Lösung von Kaliumoxalat und Natriumcarbonat alkalisiert, das Ammoniak in 20 bis 30 Minuten bei 0^0 durch einen raschen Luftstrom ausgetrieben, in verdünnter Säure aufgefangen und mittels des *Nessler*schen Reagens kolorimetrisch bestimmt.

Die Werte für den Ammoniakgehalt im normalen Katzenblut wurden erheblich niedriger gefunden als in allen früheren Untersuchungen: sie lagen unterhalb 0,1 mg für 100 ccm Blut. Der Befund, daß es nicht die Mesenterialvenen des Dünndarms sind, die der Pfortader das Ammoniak zuführen, sondern die des Dickdarms, verringerte das physiologische Interesse am Ammoniak des Pfortaderblutes, welches demnach nicht mehr als Produkt der Desaminierung im Darmepithel, sondern als Fäulnisprodukt anzusehen war. *Folin* hat später in seinen Arbeiten über die nichtkolloiden Stickstoffverbindungen des Blutes das Ammoniak wenig beachtet, obwohl ihm die Ammoniakbildung im Blute bekannt war.

Es ist merkwürdig, daß viele Autoren, die nach *Folin* und *Denis* mit derselben Methode gearbeitet haben, ihre Angaben nicht bestätigten, sondern viel höhere Werte fanden. Erst *Barnett* (16) bestätigte die Angaben von *Folin* und *Denis* am Menschenblut. *Barnett* hat es klar erkannt, daß der Ammoniakgehalt des Blutes im Vergleich mit der Ammoniakbildung, die im Blute stattfindet, unbedeutend ist, und daß in den meisten Analysen das Ammoniak bestimmt wird, das während der Analyse entsteht; durch schnelle Aufarbeitung nach dem Durchlüftungsverfahren suchte er diesen Fehler möglichst zu verringern.

Die Arbeit von *Nash* und *Benedict* (17) bildet einen dritten Wendepunkt in der Ammoniakfrage. Diese Forscher arbeiten mit 5 ccm Blut, durchlüften kurz (10 bis 15 Minuten) und bestimmen das Ammoniak kolorimetrisch. Sie finden, daß der in Übereinstimmung mit *Folin* und *Denis* sehr niedrig gefundene Ammoniakgehalt des Blutes nicht hinreichen kann, um die hohe Ammoniakexkretion zu erklären, und sprechen die Ansicht aus, daß das Harnammoniak in der Niere selber aus Harnstoff gebildet wird, um die auszuscheidenden Säuren zu neutralisieren. Ein Überschuß wird mit dem Blute der V. renalis abgeführt, die, wie *Nash* und *Benedict* finden, stets mehr Ammoniak enthält als das Blut anderer Gefäßgebiete.

Nash und *Benedict* haben keine nennenswerte Ammoniakbildung im Blute beobachten können und stehen mit den Beobachtungen von *Medwedew*, *Folin* und *Denis*, *Barnett* sowie mit unseren eigenen in einem Widerspruch, den wir nicht zu erklären vermögen.

Gelegentliche Versuche, mittels anderer Methoden das Ammoniak für die Bestimmung zu isolieren, haben keine wesentlichen Fortschritte gebracht (20), (26).

II. Die neue Methode.

Das Prinzip der neuen Methode besteht darin, daß man die flüchtige Base nicht durch einen Luftstrom, sondern durch *Wasserdampf im luftleeren Raume* überdestilliert. Sie vereinigt die Vorteile der Vakuumdestillation und der Lüftungsmethode und übertrifft jede von beiden.

Man läßt durch das alkalisierte Blut im luftleeren Raume Wasserdampf durchströmen, der unter Atmosphärendruck einströmt und aus dem Blut ausgetreten, durch Kühlung kondensiert wird. Wenn z. B. 2 ccm Blut analysiert werden, so treiben wir, im Verlauf von 3 bis 4 Minuten, bei 25 mm Druck so viel Wasserdampf durch, daß in der Vorlage 4 bis 5 g Wasser kondensiert werden. Die Temperatur der Flüssigkeit steigt dabei nicht über 25°. Der Durchlüftungseffekt ist dabei so, wie wenn in dieser Zeit etwa 150 Liter Gas durchgeleitet würden; es wäre aber nicht möglich, einer solchen Gasmenge die mitgeführten kleinen Ammoniakmengen zu entziehen (bei der Durchlüftungsmethode von *Nash* und *Benedict* bläst man etwa 4 Liter in der Minute durch). Auch bei dem größten physiologischen Ammoniakgehalt des Blutes wird nach dem neuen Verfahren die Base vollständig isoliert.

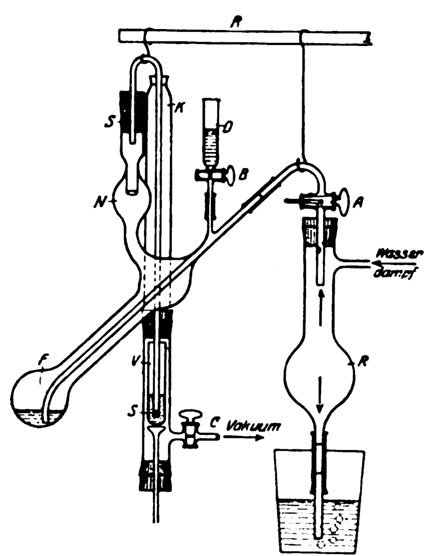


Abb. 1. *F* Destillierkolben. *R* Rückflußrohr. *V* Vorlage. *S* und S_1 Silberdrahtnetzspiralen. *N* Vorstöße. *K* Kühler. *A* Schwanzhahn zum Drosseln des Wasserdampfes. *C* Hahn zwischen Vorlage und Pumpe. *R* Stativarm. Durchmesser des Kolbens 48 mm. Höhe vom Scheitel der unteren zum Scheitel der oberen Kugel 200 mm.

Die Destillation wird in dem Apparat ausgeführt, den *Parnas* und *Wagner* angegeben haben[1]). Eine ausführliche Würdigung desselben ist bei *F. Pregl* zu finden[2]).

Der Apparat wird jetzt von *R. Goetze*, Leipzig, von *Paul Haack*, Wien, und den *Ver. Werkstätten f. Lab.-Bed.*, Berlin, angefertigt; er ist dem ursprünglichen Modell gegenüber verändert, die Aufsätze sind länger und weiter und mit dem Kühler durch Vorstoß- und Gummistopfen verbunden. Er wird mit Kühlrohr aus Silber oder — auf Vorschlag von *F. Pregl* — aus Quarz angefertigt. Für die Vakuumdestillation ist das Silberrohr vorzuziehen.

Das Rückflußrohr soll mindestens 150 ccm fassen können; es ist mit dem Destillierkolben durch einen Dreiweghahn (sogenanntem Schwanzhahn) verbunden, der entweder Außenluft oder Wasserdampf zutreten läßt. Der kleine zylindrische Eingußtrichter ist auch durch Hahn mit dem Kolben verbunden. Über das Kühlrohr, das um 15 cm aus dem Mantel herausragt, ist die Vorlage mittels Stopfens aufgesetzt und unten mit einem durchlöcherten Stopfen verschlossen; durch diesen tritt ein Glasstab[3]) ein, durch

[1]) Diese Zeitschr. **125**, 253, 1921.

[2]) Organ. Mikroanalyse, 2. Aufl., 1923, S. 118—122.

[3]) Dieser oben flachgedrückte Glasstab sitzt ziemlich lose im Stopfen und ist mit Vaseline schlüpfrig gemacht.

welchen das eigentliche Vorlageröhrchen höher oder tiefer gestellt wird. Der seitliche Ansatz des Vorlagehalters, der zur Pumpe führt, ist durch einen Hahn verschließbar.

Das Rückflußrohr ist durch Schlauch und Glasrohr verlängert, die in Wasser tauchen. Dieses Rohr läßt den überschüssigen Dampf aus dem Dampfentwickler entweichen und dient zugleich als Manometer für den Dampf. Der Wasserdampf wird aus verdünnter Schwefelsäure über einem starken Brenner und mit reichlichen Siedesteinen entwickelt.

Bei der kolorimetrischen Ammoniakbestimmung[1]) ist darauf zu achten, daß aus *neuen* Gummiverbindungen Schwefelverbindungen [wahrscheinlich Schwefelwasserstoff) entweichen, die das *Nessler*sche Reagens bräunen[2])] und Ammoniak vortäuschen; auf die Ammoniakabgabe aus alten Schläuchen und Stopfen ist schon oft aufmerksam gemacht worden. Wir haben uns nicht entschlossen, auf Gummiverbindungen zu verzichten, aber wir haben sie tunlichst eingeschränkt. Es wird sehr sorgfältig mechanisch gereinigtes, stark vaseliniertes Gummi verwendet. Der Punkt, an welchem Schwefelwasserstoff entweicht, ohne später eine alkalische Lösung zu passieren, ist die Verbindung zwischen Kolben und Kühlrohr; wir lassen das Kühlrohr 3 bis 5 cm in den Vorstoß ragen und füllen die freie Strecke durch eine dichte Spirale aus Silberdrahtnetz (*Kahlbaum*, 625 Maschen pro Quadratzentimeter) aus, die um das Kühlrohr im Innern des Vorstoßes gewickelt ist. Das Silber schwärzt sich in der ersten Zeit an der dem Stopfen zugekehrten Seite, dann aber hört die H_2S-Abgabe allmählich auf.

In das Ende des Kühlrohres, das in die Vorlage taucht, wird eine 3 mm breite, loser gewickelte Spirale aus Silberdrahtnetz geschoben, die um 1 mm herausragt. Sie fördert die Absorption in der Vorlage ausgezeichnet. Diese Spirale schwärzt sich kaum noch.

---

[1]) Die Stickstoffbestimmung nach *Folin* und *Wu* (Journ. of. biol. Chem. 38, 87, 1919) hat sich in den letzten Jahren auch in Europa eingebürgert. Die von *Stanford* (Biochem. Journ. 17, 844, 1923) gegen die direkte Nesslerisierung erhobenen Einwände lehnte zwar *Folin* (Biochem. Journ. 18, Nr. 2, 1924) ab, es ist aber bei diesem Verfahren nicht zu vermeiden, die Lösungen durch Zentrifugieren zu klären oder auch oft verwerfen zu müssen. Wie oft entschließt man sich dann, nicht ganz klare Lösungen zu kolorimetrieren. In unserem Laboratorium werden die nach *Folin* und *Wu* verbrannten Lösungen im Apparat von *Parnas* und *Wagner* destilliert, was wenig Zeit (2 Minuten) in Anspruch nimmt — weniger als Zentrifugieren — und ganz klare Lösungen mit dem *Nessler*schen Reagens liefert. Dies gilt auch besonders für die Gewebsanalysen, die an Erdalkalien reich sein können und sich nicht direkt nesslerisieren lassen.

[2]) Wir halten dieses für die wichtigste der Fehlerquellen, die durch Gummiverbindungen bedingt werden. Die Farbe, die durch Schwefelverbindungen im *Nessler*schen Reagens erzeugt wird, ist von der durch Ammoniak erzeugten deutlich verschieden, weniger rötlich, aber in großen Verdünnungen natürlich nicht zu unterscheiden. *O. Folin* (Laboratory Manual, New York 1922, S. 139) erwähnt die Stoffe, welche die Ammoniakreaktion mit der Nesslerreaktion stören; er macht besonders auf Aminosäuren, Peptone, Eiweißkörper aufmerksam. Wir möchten noch den Harnstoff hinzufügen, der die *Nessler*sche Reaktion ganz besonders wirksam stören, sogar ganz aufheben kann.

Es ist noch zu bemerken, daß der Apparat keineswegs aus Hartglas zu bestehen braucht; man achte darauf, daß er nicht zu dünn im Glase sei, daß das Dampfeinleitungsrohr im Destillierkölbchen an der tiefsten Stelle des Kölbchens etwa 0,5 mm von der Wand ende und in seinem Verlauf ein möglichst gleichmäßiges Lumen habe. Die Apparatur ist bei sorgfältigem Gebrauch unverwüstlich.

Wir fassen den Destillierkolben nicht in Klammern, sondern hängen ihn ganz lose auf Drahthaken, die um die Biegung des Kühlrohres greifen. Dadurch ist der Apparat ganz beweglich und elastisch und ist zugleich dem Bruch wenig ausgesetzt.

Der Gang der Analyse wird unten beschrieben.

Die Alkalisierung des Blutes.

Wir verwenden eine Boratlösung, die aus 250 ccm der *Sörensen*schen Lösung (12,404 Borsäure und 100 ccm n/1 NaOH in 1 Liter) durch Verdünnen mit 100 ccm n/10 NaOH erhalten wird[1]). Diese Lösung bläut Thymolphthalein. Es wird von diesem alkalischen Puffer das gleiche Volumen zum Blute zugesetzt und dadurch dieses auf $10^{-9,2}$ gebracht.

Wir haben diese Alkalisierung durch Ausprobieren als diejenige gefunden, bei welcher durch eine Destillation das Ammoniak aus dem Blute so vollständig ausgetrieben wird, daß die nächste ein ammoniakfreies Destillat liefert. Es hat sich später herausgestellt, daß gerade diese Alkalisierung nicht nur dadurch geeignet ist, daß sie das Ammoniak aus den Salzen vollständig frei macht, sondern dadurch, daß sie den Prozeß der Ammoniakbildung im Blute zum Stillstand bringt. Eine schwächere Alkalisierung ($p_H = 8{,}4$) stellt im Gegensatz dazu geradezu ein Optimum für die Ammoniakbildung dar. Ein solches Optimum für die Ammoniakbildung scheint in den Bedingungen der Methode von *Gad Andersen* (18) vorgelegen zu haben, der das untersuchte Blut mit 0,1 Vol. der *Sörensen*schen Boratlösung alkalisierte und bei einer 30 Minuten langen Destillation 0,38 bis 0,51 mg-Proz. Ammoniak-N fand.

Das Schäumen des Blutes wird durch Zusatz von 2 ccm flüssigen Paraffins vollständig verhindert. Wenn der Inhalt des Kolbens von dem Dampf durchströmt wird, so wird die Flüssigkeit heftig herumgewirbelt und zerspritzt, aber sie schäumt nicht, und kein Spritzer gelangt aus dem Kolben in die Aufsätze; man findet nur einzelne Tropfen in der oberen Kugel des Kolbens.

Die Boratlösung wird durch das der Analyse vorausgehende Destillieren verdünnt und bewirkt nach Vermischen mit dem Blute sofortige Hämolyse.

Die kolorimetrische Bestimmung des Ammoniaks wird in verschiedener Weise ausgeführt, je nachdem kleinere oder größere Mengen im Destillat vorhanden sind. Zu den 4 bis 6 ccm Destillat wird 0,5 ccm *Nessler*sches Reagens[2]) auf einmal hinzugefügt; nach etwa 15 Minuten wird dann kolori-

---

[1]) Unter Paraffin aufzubewahren.

[2]) Nach der Vorschrift von *Folin* und *Wu* bereitet; Journ. of biol. Chem. 38, 87, 1919.

metrisch verglichen. Wenn die Ammoniakmenge unter 0,2 mg pro 100 ccm Blut liegt, d. h. wenn in der Analyse von 1 ccm Blut weniger als 0,002 mg Ammoniakstickstoff vorhanden sind, so wird in dünnen Reagenzgläsern von 6 mm Durchmesser, die alle gleiches Kaliber haben, die unbekannte Lösung mit bekannten, gleichzeitig bereiteten Vergleichslösungen verglichen. Wenn man gegen Milchglas betrachtet, das am Boden einer Pappschachtel liegt und durch ein für das Auge verdecktes in einer Wand der Schachtel angebrachtes Mattglasfenster beleuchtet ist, so kann man Unterschiede von 0,0001 mg Ammoniakstickstoff noch deutlich wahrnehmen, d. h. man kann bei der Analyse von 2 ccm Blut unterscheiden, ob der Ammoniakgehalt etwa 0,045 oder 0,050 mg in 100 ccm Blut beträgt.

Für die Bestimmung größerer Mengen verwenden wir ausschließlich das *Wolff*sche Kolorimeter der Firma *Kruess*, unter Anwendung von Mensuren, in welchen 20 ccm eine Höhe von 17 cm haben[1]). Obwohl wir das „Kleine Eintauchkolorimeter" von *Schmidt* und *Haensch*, sowie *Authenrieth*sche Kolorimeter in Verwendung haben, benutzen wir für die Ammoniakbestimmungen ausschließlich das *Wolff*sche Instrument, das in allen Fällen den Tauchkolorimetern überlegen ist, in welchen man kleine Substanzmengen mit ihrer ganzen Masse kolorimetrisch wirken lassen will[2]).

Als Standardlösung wird eine Ammoniumsulfatlösung verwendet, die mit etwas Toluol konserviert unbegrenzt haltbar ist. Sie enthält im Kubikzentimeter 0,002 mg Stickstoff. Wenn also das Destillat aus 2 ccm Blut Farbengleichheit mit 1 ccm Standard aufweist, so enthält das Blut 0,1 mg NH_3-Stickstoff in 100 ccm, dagegen 0,2 mg-Proz., wenn das Destillat aus 1 ccm Blut erhalten wurde. Die Standardlösung wird aus einer *Pregl*schen automatischen Bürette (in $^1/_{20}$ ccm geteilt) oder mit Vollpipetten abgemessen.

Es wurde selbstverständlich die größte Sorgfalt darauf verwendet, zufällige Verunreinigungen durch Ammoniak der Laboratoriumsluft auszuschließen. Da unser städtisches Leitungswasser nicht nur kein Ammoniak, sondern auch keine Spur von Nitraten enthält, so ist auch das im kontinuierlich wirkenden Destillationsapparat erhaltene destillierte Wasser ganz ammoniakfrei. Das Laboratorium wurde dauernd gelüftet, und alle Ammoniakflaschen waren daraus entfernt. Trotzdem enthielt der Apparat stets etwas Ammoniak, wenn er über Nacht bei geschlossenen Fenstern gestanden hatte.

---

[1]) Diese Mensuren (12,5 mm lichte Weite) geben einen genügend flachen Meniskus, dessen Mittelfeld bei der engen Prismenblende des Instruments (7,5 mm) ganz homogen erscheint.

[2]) *Folin* und *Denis* kolorimetrieren kleine Ammoniakmengen im *Dubosq*schen Kolorimeter; in dem sie das Unbekannte in ein Polarimeterrohr an Stelle des einen Zylinders und Tauchers setzen und so stärkere Flüssigkeitssäulen erhalten. Es besteht dann aber ein sehr großer Unterschied zwischen der Schichtdicke der untersuchten und der bekannten Lösung. Das Prinzip von *Myers* (Journ. of biol. Chem. **41**, 132, 1920), das Ammoniak in Ammonsulfatlösungen aufzufangen und so stärkere Färbungen zu erhalten, scheint uns gegen eines der Grundprinzipien der Sinnesphysiologie, d. h. gegen das *Fechner*sche Prinzip zu verstoßen.

Die Reagenzien waren durchaus ammoniakfrei[1]).

Die Untersuchungen wurden bis jetzt ausschließlich an Kaninchenblut ausgeführt, meist an Oxalatblut, in einigen Fällen an defibriniertem Blute. Das Blut wurde aus Ohrvenen oder Ohrarterien entnommen, war also arterielles Blut. Das Ohr wurde sauber rasiert, mit Seife und Wasser, dann mit Alkohol gewaschen, darauf mit Xylol die Gefäße gelähmt; wenn die Gefäße prall gefüllt sind, wird das Ohr mit reiner Vaseline dick beschmiert; dann wird, ohne jede Stauung, mit einem spitzen Skalpell, mit der Schneide nach oben, ein 2 bis 3 mm langer Schnitt in die Vene oder Arterie gemacht. Das Blut tropft oder spritzt dann schnell, ohne sich auf dem Ohr auszubreiten, und es können in wenigen Minuten 10 bis 20 ccm aufgefangen werden, ohne daß sich Gerinnsel bilden. Das Blut wird in Röhrchen aufgefangen, deren Wände mit Lithiumoxalat[2]) bestreut sind, und gleich mit flüssigem Paraffin bedeckt[3]).

Meistens benutzen wir die Marginalgefäße sowie die Arterie, die lateral neben der Zentralvene unter spitzem Winkel zu derselben verläuft. Bei dem geschilderten Verfahren verletzt man die Gefäße nicht, wie bei dem oft empfohlenen Einstechen von Hohlnadeln und Thromben, es bilden sich keine Ergüsse, und man kann aus einem Ohr sehr oft Blutproben entnehmen. Die Tiere werden nicht aufgebunden, sondern sitzen ruhig vor dem Experimentator, das Aufhängen an den Beinen war niemals nötig. Wir geben diese Erfahrungen wieder, da wir zu Anfang Schwierigkeiten hatten, und wissen, daß auch andere Forscher manchmal solche empfunden haben.

Das Wesentliche an unseren Versuchen ist die Anwendung von Kontrollen, die mögliche Fehler beseitigen. Jede Analyse besteht aus folgenden Teilanalysen:

1. *Es werden die Reagenzien, d. h. das Borat und das Paraffin destilliert;* die durchgetriebenen 4 ccm Wasser in 2 Tropfen n/10 HCl aufgefangen, dürfen nicht mehr Färbung mit dem *Nessler*schen Reagens geben als 4 ccm destillierten Wassers mit 2 Tropfen derselben Säure.

2. *Nun wird Blut hinzugefügt und wieder 4 bis 6 ccm destilliert. Dies ist die eigentliche Analyse.*

3. *Es werden nochmals 4 ccm Wasser durchgetrieben, die sich ammoniakfrei erweisen müssen,* oder, nach Destillation einer ammoniakreichen

---

[1]) Lithiumoxalat (*Kahlbaum*), Natriumoxalat nach *Sörensen* (*Kahlbaum* sowie *De Haen*), Borsäure nach *Sörensen* (*Kahlbaum*), Natronlauge (*De Haen* und *Kahlbaum*), Salzsäure (*Kahlbaum*), Kochsalz, Chlorkalium, Chlorcalcium, Borax (*Kahlbaum*), CO_2 und N_2 unbekannter Provenienz. Flüssiges Paraffin (*Kahlbaum*).

[2]) Das Lithiumoxalat, als gerinnungshemmendes Mittel von *Folin* vorgeschlagen, ist bei *Kahlbaum* käuflich und durch seine Löslichkeit wirklich geeignet, die anderen Oxalate für diesen Zweck zu verdrängen. Das *Kahlbaum*sche Präparat ist ammoniakfrei und durch Lithiumcarbonat ein wenig alkalisch.

[3]) Die Gefäße und Pipetten wurden oft mit Chromsäure und Natronlauge gereinigt und bei 120° getrocknet. Das Blut, das in der angegebenen Weise aufgefangen wurde, verfiel, wie wir oft beobachtet, auch nach 10 bis 14 Tagen nicht in Fäulnis.

Blutprobe, nur Mengen von der Ordnung 10^4 mg enthalten dürfen. Enthalten sie mehr, so wird das Destillat zu dem von 2. hinzugefügt und nochmals destilliert; dieses Destillat wird rein sein.

4. Es wird eine bekannte Menge Ammoniak hinzugefügt, am besten so viel, wie in Analyse 2 gefunden wurde, oder mehr. Es werden wieder 4 ccm destilliert, in welchen das zugefügte Ammoniak sich quantitativ wiederfinden muß.

Durch die Kontrolle 1 wird die Ammoniakfreiheit der Reagenzien und die Reinheit des Apparates geprüft, die Probe 3 zeigt die Vollständigkeit der Destillation an, Kontrolle 4 schließlich zeigt, daß bei der vorhandenen $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration des Blutboratgemisches auch größere Mengen Ammoniak quantitativ wiedergefunden werden können. Die Kontrolle 4 kann man fortlassen, wenn man das analysierte Blut gut kennt und weiß, daß das zugefügte Borat für die Ammoniakaustreibung genügt. Dagegen unterlasse man *niemals* die Kontrolle 1 und die Kontrolle 2 höchstens nur dann, wenn das Blut sehr ammoniakarm ist. Die beschriebenen Kontrollen, von welchen jede nur 3 bis 4 Minuten dauert, sind übrigens schneller erledigt als etwa eine Prüfung der $H^{\cdot}$-Konzentration des Blutes nach Boratzusatz.

Wir beschreiben nun den Verlauf eines Versuches.

Der Apparat (Abb. 1, S. 6) ist zusammengestellt, die Pumpe geöffnet, der Wasserdampfentwickler im vollen Sieden, und der Dampf entweicht durch das abschließende, zum Sieden heiße Wasser, das sich in einem Porzellanbecher befindet. Die Hähne *A*, *B* und *C* sind geschlossen.

Man gießt in den Trichter *D* 2 ccm Paraffin und 1 ccm Boratlösung, öffnet den Hahn *C* und läßt durch vorsichtiges Öffnen des Hahnes *B* Paraffin und Borat in den Destillierkolben fließen. Jetzt öffnet man langsam den Hahn *A* und läßt Wasserdampf in den Destillierkolben einströmen; wie man den Hahn zu stellen hat, das muß man selber ausprobieren: man richtet sich nach der Temperatur im Destillierkolben und danach, daß das Wasser aus dem Becher nicht in das Rückflußrohr zurücksteigen darf. Indem man den Wasserdampf entsprechend drosselt, stellt man zugleich das Vorlageröhrchen immer tiefer, so, daß das Kühlerrohr nur ein wenig eintaucht; die Temperatur im Kolben läßt man nicht über 30 bis 40^0 steigen. Sobald der Stand der Flüssigkeit in der Vorlage 4 ccm erreicht hat, zieht man die Mündung des Kühlers aus der Flüssigkeit und läßt noch 1 ccm frei abtropfen. Dann schließt man den Hahn *A*, darauf Hahn *C* und stellt schließlich *A* so, daß Luft einströmt. Man nimmt jetzt das Vorlageröhrchen heraus und stellt ein anderes, mit 2 Tropfen Salzsäure beschicktes, hinein.

Wenn das Destillat ammoniakfrei ist, so kann man zur eigentlichen Analyse schreiten, sonst wiederhole man die Destillation. Das letzte Destillat, mit *Nesslers* Reagens versetzt, bewahre man auf.

Man gießt wieder 1 ccm Paraffin in den Trichter, öffnet den Hahn C, mißt 1 ccm Blut in einer auf „ausblasen“ geeichten *Ostwald*schen Pipette ab und steckt diese mit der Spitze in die Verjüngung des Trichters, unter das Paraffin. Durch vorsichtiges Öffnen des Hahnes B kann man nun das Blut unter dem Paraffin in den Apparat fließen lassen, indem man nach Entleerung der Pipette 15 Sekunden verstreichen läßt und diesen Rest durch Öffnen des Hahnes einzieht. Man zieht die Pipette zurück und bringt die im Paraffin hängenden Bluttröpfchen in den Kolben. Man wird erstaunt sein, wie sauber und quantitativ das Blut auf diese Weise in den Destillierkolben gebracht wird[1]). Im Kolben wird es sofort hämolysiert und beginnt infolge Gasabgabe zu schäumen; man warte nun nicht lange, sondern schreite sofort zur Destillation, indem man den Hahn A so stellt, daß der sehr lebhaft durchströmende Dampf der Blutlösung keine höhere Temperatur erteile als 25°; man schätzt die Temperatur annähernd mit der Hand.

Auch die lebhafteste Destillation bewirkt in dem alkalisierten Blute kein Schäumen; solches kommt nur dann vor, wenn man die Flüssigkeit zu sehr erwärmt hat und dann auf einmal den Dampf abdrosselt.

Man destilliert wie bei der Voranalyse; wenn das Blut besonders ammoniakreich ist, so kann man auch 6 bis 8 ccm auffangen. Man schließt die Hähne, wie oben angegeben, und läßt dann die Kontrolldestillation 3 und 4 folgen.

Wenn der Ammoniakgehalt des Blutes weniger als 0,2 mg-Proz. beträgt, so analysiere man in dieser Weise 2 ccm Blut und nehme 2 ccm Borat. Man destilliert dann aber nicht mehr Wasser durch als bei der Analyse von 1 ccm Blut.

Da die Alkaleszenz, bei der destilliert wird, den Prozeß der Ammoniakbildung im Blute hemmt, so kann man in Versuchen, in welchen dieser Prozeß schon zum Teil abgelaufen ist, mehrere Analysen nacheinander ausführen, ohne den Kolben zu entleeren und indem man immer nur zwischen die einzelnen Analysen die Kontrolle 3 einschaltet, und nach der letzten eine Kontrolle 4 folgen läßt. Man spart dadurch viel Zeit und ist nur durch das Fassungsvermögen des Destillierkolbens beschränkt. Bei Versuchen über die Anfangsstadien der Ammoniakbildung sowie über den Gehalt des genuinen Blutes (der unter 0,1 mg-Proz. beträgt) würden jedoch solche Serien Unsicherheit hineinbringen.

Zur Entleerung und Reinigung läßt man durch den Trichter Wasser so weit einlaufen, als Blutspritzer im Destillierkolben vorhanden sind; das Blut löst sich in der alkalischen Flüssigkeit schnell auf. Dann läßt man, bei abgestelltem Brenner, den Kolbeninhalt in das — unten abgeklemmte — Rückflußrohr zurückfließen, wie von *Parnas* und *Wagner*

---

[1]) Manchmal verwenden wir auch auf Inhalt geeichte *Ostwald*sche Pipetten und spülen mit 1 Vol. Wasser nach.

angegeben wurde. Man wiederholt diese Reinigung, bis das Blut ganz entfernt ist, und läßt die Paraffinreste im Kolben.

Diese Reinigung und die Verwendung der alkalischen, fäulnishemmenden Boratlösung hält den Apparat sauber; nur selten, nach mehreren Dutzenden oder Hunderten von Analysen, oder wenn eine längere Pause bevorsteht, wird der Apparat auseinander genommen und der Destillationskolben mit Chromsäure gereinigt.

Wenn man eine Serie von Versuchen macht, so bereitet man gleich nach der ersten Destillation eine kolorimetrische Vergleichslösung vor, die für die voraussichtlich stärkste Ammoniakmenge der Serie geeignet ist; dann führt man im *Wolff*schen Kolorimeter die Vergleichungen nacheinander aus, mit der stärksten Lösung beginnend. Für die Bestimmung der kleinen Mengen dagegen fängt man mit der schwächsten an, indem man die Standardlösung durch Hinzufügen von Ammoniumsalz zu der aufbewahrten blinden Probe (Destillat von Kontrolle 1) verstärkt.

Die Prüfung des Destillierverfahrens wurde so durchgeführt, daß zu 2 ccm Boratlösung bzw. 2 ccm Blut nacheinander steigende Mengen der Ammoniumstandardlösung hinzugefügt wurden und das Destillat mit den den zugefügten gleichen Mengen kolorimetrisch verglichen wurde.

Tabelle II. A. Zu 2 ccm Borat werden bestimmte Mengen Standardammoniaklösung hinzugefügt, 5 ccm Wasser durchgetrieben; die gleiche Ammoniakmenge wird ohne Destillation in einen Zylinder des Kolorimeters gegeben, in den anderen das Destillat, *Nesslers* Reagens zugefügt und kolorimetrisch verglichen[1]).

Zugesetzte Standardlösung ccm	Wiedergefunden Proz.	Zugesetzte Standardlösung ccm	Wiedergefunden Proz.
1	99	4	100,5
2	100	5	98,5
3	102	0	0

Tabelle II. B. 1 ccm 4 Stunden altes Blut wird mit 1 ccm Borat versetzt und 5 ccm destilliert. Dann wird eine Reihe, Kontrolle 3 und 4, ausgeführt.

Art der Kontrolle	Zugesetzt NH_3 entsprechend mg-Proz. NH_3-Stickstoff	Wiedergefunden = mg-Proz. NH_3-Stickstoff	Art der Kontrolle	Zugesetzt NH_3 entsprechend mg-Proz. NH_3-Stickstoff	Wiedergefunden = mg-Proz. NH_3-Stickstoff
1	0	0,01	3	0	0,01
2	0	0,76	4	1,0	1,02
3	0	0,02	3	0	0,00
4	0,2	0,21	4	2,0	1,98
3	0	0,01	3	0	0,025
4	0,4	0,40			

[1]) Die nichtdestillierte Standardlösung wird im *Wolff*schen Kolorimeter auf 100 verdünnt, ebenso die destillierte. Die Zahlen unter 100 geben die unmittelbare Ablesung wieder, die über 100 bedeuten das Produkt 100 : Höhe der destillierten Standardlösung.

III.

Der Ammoniakgehalt des normalen Blutes.

Es soll in dieser Arbeit noch nicht auf Vergleich verschiedener Tierarten sowie verschiedener Gefäßgebiete eingegangen werden; alle Daten beziehen sich auf arterielles Kaninchenblut.

Bei der Untersuchung des Ammoniakgehaltes im normalen Blute läßt sich derselbe Zug im individuellen Arbeiten wie in der Geschichte der ganzen Frage beobachten: je vervollkommneter die Methode ist und je besser man sie beherrscht, um so geringer werden die Werte im normalen Blute gefunden. Das Wichtigste ist die schnelle Blutentnahme und sofortiges Einbringen in die alkalische Pufferlösung. Wir haben anfangs oft Werte gefunden, die uns auf Verschiedenheiten im Ammoniakgehalt in verschiedenen Zuständen des Tieres zu deuten schienen, die aber später, als wir die Kurve der Ammoniakbildung im Blute kennenlernten, verdächtig erschienen und bei einer Nachprüfung sich lediglich als Folge einer zu langsamen Blutentnahme erwiesen. Wenn man bedenkt, daß in der Minute bei 40° 0,017 mg-Proz., bei 20° 0,007 mg-Proz. Ammoniak gebildet wird, so wird es klar, welchen Fehler in bezug auf den Anfangswert die ersten Minuten bedingen. In Versuchen (Tabelle III, 11 bis 24), die besonders auf die Bestimmung des Normalwertes ausgingen, in welchen zwischen Anschneiden des Gefäßes und Einbringen des Blutes in den alkalischen Prüfer kaum 60 bis 80 Sekunden verstrichen sind, finden wir bei normalen Männchen Werte, die unter 0,045 mg-Proz. liegen. Diese Werte können höchstens um 0,025 mg-Proz. über dem Anfangswert liegen.

Wir werden es noch versuchen, durch sofortiges starkes Abkühlen des ausfließenden Blutes oder durch sofortige alkalische Hämolyse den Anfangszustand zu fixieren und dem richtigen Werte näher zu kommen. Vorläufig halten wir den Wert 0,02 mg-Proz. für den Normalwert.

Wie aus Tabelle III zu ersehen ist, findet man bei hungernden Tieren sowie bei trächtigen Weibchen höhere Werte. Die hier angeführten entstammen aus Versuchen, die (mit den obigen Einschränkungen) einwandfrei waren. Auf ebensolche Versuche beziehen sich die Werte für junge Tiere. Unsere ursprünglichen Ergebnisse, daß junge Kaninchen einen höheren Ammoniakgehalt im Blute hätten, hat sich bei besseren Versuchen nicht bestätigt.

Weitere Versuche werden lehren müssen, inwiefern der Ammoniakgehalt des Blutes vom Anteil des endogenen Eiweißumsatzes am Gesamtumsatz abhängt. Die vorläufigen Ergebnisse scheinen auf einen solchen Zusammenhang hinzuweisen.

Tabelle III. Ammoniakgehalt (mg NH_3-Stickstoff in 100 ccm) im Blute normaler Kaninchen.

Nr.	Datum	Bezeichnung des Tieres	Ammoniakgehalt	Bemerkung
1	12. VI.	♂ erwachsen (kastriert)	0,025	Genährt
2	17. VI.	♀ "	0,085	Trächtig
3	19. VI.	♂ " (kastriert)	0,03	Genährt
4	24. VI.	♂ " "	0,05	"
5	25. VI.	♂ " "	0,04	"
6	27. VI.	♂ " "	0,03	"
7	30. VI.	♂ " "	0,04	"
8	2. VII.	♂ " "	0,05	"
9	7. VII.	♂ " "	0,04	"
10	12. VII.	♂ " "	0,04	"
11	17. VII.	♀ "	0,08	Trächtig
12	17. VII.	♀ "	0,08	"
13	17. VII.	♀ "	0,10	"
14	18. VII.	♂ 3 Monate alt	0,025	Genährt
15	18. VII.	♂ 3 " "	0,045	"
16	18. VII.	♂ 3 " "	0,045	"
17	18. VII.	♂ 2 " "	0,045	"
18	18. VII.	♂ 2 " "	0,035	"
19	19. VII.	♂ erwachsen (kastriert)	0,080	40 Stunden Hunger
20	19. VII.	♂ " "	0,11	"
21	19. VII.	♂ " "	0,10	"
22	19. VII.	♂ " "	0,10	"
23	19. VII.	♂ " "	0,11	"
24	19. VII.	♂ " "	0,035	"

Aus Versuchsreihen, in welchen wir schwächer alkalisierten (¼ Vol. Boratlösung zum Blut zusetzten) haben wir folgende Werte:

Erwachsene Männchen, gefüttert: 0,08, 0,06, 0,02, 0,075.
Erwachsene Männchen, Hunger: 0,075, 0,06, 0,1, 0,15.
Erwachsene Weibchen, trächtig: 0,05, 0,065, 0,07, 0,06, 0,16.
Erwachsene Weibchen, säugend: 0,1.
Junge Tiere, 2 Monate alt: 0,08, 0,08.

In diesen Versuchen war jedoch die Ammoniakbildung nicht aufgehalten und infolgedessen fielen die Kontrollen 3 (vgl. S. 13) nicht einwandfrei aus. Die Versuche 11 bis 24 sind die besten, in diesen dauerte die Manipulation vom Einstich bis zum Beginn der Destillation nur 60 bis 80 Sekunden.

IV.

1. Die Ammoniakbildung im Blute.

Wenn man Kaninchenblut, das frisch gelassen worden ist, unter Luftabschluß eine Stunde lang bei 20° stehen läßt, so steigt der Ammoniakgehalt auf das 10fache des ursprünglichen Wertes. Dieser Prozeß verläuft dann immer langsamer; nach 24 Stunden findet man einen Ammoniakgehalt von etwa 2 mg NH_3-Stickstoff in 100 ccm Blut[1]).

[1]) Mit der Einschränkung, daß sich diese Angabe vorläufig nur auf Kaninchenblut bezieht, möchten wir betonen, daß dieser Vorgang im Kaninchenblut sich ausnahmslos mit der größten Regelmäßigkeit vollzieht. Die Frage, warum *Nash* und *Benedict* den Vorgang im Hundeblut nicht beobachten konnten, lassen wir vorläufig unerörtert.

Bei Körpertemperatur vollzieht sich dieser Vorgang mit größerer, bei 0° mit geringerer Geschwindigkeit.

Die späteren Stadien der Ammoniakbildung im Blute sind von *Medwedew* (6), wie bereits erwähnt, ausführlich studiert worden. Dieser Forscher hat aber die Bedingungen nicht festgelegt und sich unmittelbar einerseits nach pathologischen Anwendungen, andererseits nach einer Erfassung des Vorganges in Gleichungen der Reaktionskinetik bemüht. Das Studium des Vorganges schien aus vielen Gründen interessant, und es wurde deshalb versucht, die Bedingungen der Ammoniakbildung im Blute genauer kennenzulernen. Wir fassen das vorläufige Ergebnis kurz zusammen.

Die Ammoniakbildung im Blute ist ein Vorgang, dessen Hauptanteil in den roten Blutkörperchen verläuft; doch findet daneben auch eine — viel schwächere — Ammoniakbildung im Plasma statt. Das in den Körperchen gebildete Ammoniak verteilt sich durch Diffusion gleichmäßig auf Körperchen und Plasma bzw. Serum. Im enteiweißten Blute findet der Prozeß nicht statt, auch wenn die Lösung im Kontakt mit dem Niederschlag bleibt. Er ist also an die kolloiden Bestandteile des Blutes gebunden.

Die Ammoniakbildung im Blute verläuft mit abfallender Geschwindigkeit so, als ob die Muttersubstanz des gebildeten Ammoniaks in der Reaktion allmählich erschöpft würde. Das Reaktionsprodukt, d. h. Ammoniak, in Form von Ammoniumsalz zugesetzt, hemmt oder beeinflußt den Reaktionsverlauf nicht merklich; die Ammoniakbildung superponiert sich der Ammoniakmenge, die zugesetzt worden ist, auch wenn diese so groß ist, wie das maximal im Blute entstehende Ammoniak.

Die Ammoniakbildung im Blute ist ein anaerober Vorgang, der in Stickstoff genau so verläuft wie in Sauerstoff.

Im Verlaufe der Ammoniakbildung bleibt der nichtkolloide Stickstoff des Blutes unverändert; auch der Harnstoffgehalt ändert sich nicht. Zusatz von Harnstoff beeinflußt die Ammoniakbildung ebensowenig wie Zusatz von Ammoniak. Die Muttersubstanz des Ammoniaks scheint ein Körper zu sein, der zu den nichtkolloiden Stickstoffverbindungen des Blutes gehört, der aber nicht Harnstoff ist.

Die Geschwindigkeit des Vorganges ist von der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration im Blute abhängig. Das Optimum liegt nicht bei der p_H des genuinen Blutes, sondern etwa bei der Reaktion des entgasten Blutes, also bei $p_H = 8,4$. Die Erhöhung des CO_2-Drucks verringert die Reaktionsgeschwindigkeit, und ebenso wirkt die Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration nach der alkalischen Seite zu, wenn das Optimum überschritten ist.

Der Temperaturkoeffizient der Ammoniakbildung im Blute beträgt zwischen 0 und 20° 1,4, zwischen 20 und 40° 1,8, ist also für einen biologischen Vorgang auffallend klein.

Hämolyse verlangsamt den Vorgang ein wenig. Fluoridzusatz zum nichthämolysierten Blute bewirkt auch nur eine geringfügige Verlangsamung.

Die Ammoniakbildung im Blute scheint demnach ein Vorgang zu sein, in welchem ein nichtkolloider Bestandteil des Blutes, der in den Blutkörperchen konzentriert ist, unter der Wirkung eines kolloiden Bestandteiles Ammoniak abspaltet.

2. *Die experimentell unbeeinflußte Ammoniakbildung.*

In fast allen Versuchen über die Beeinflussung der Ammoniakbildung wurden Kontrollversuche in der Weise ausgeführt, daß eine Blut-

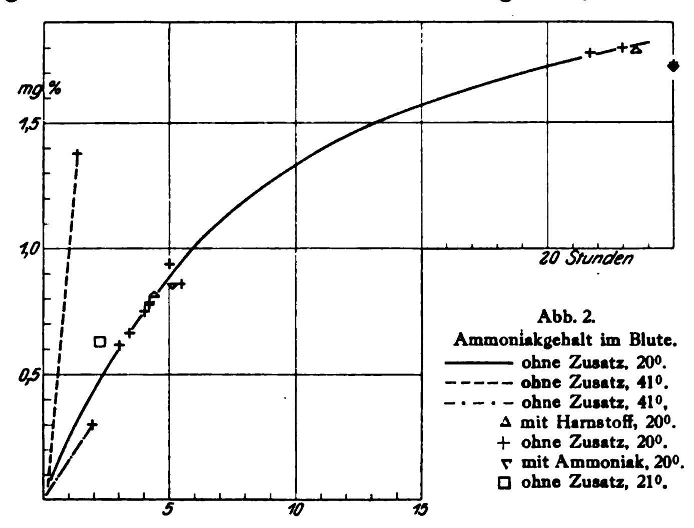


Abb. 2.
Ammoniakgehalt im Blute.

probe mit Paraffin bedeckt mit den anderen in das Wasserbad gestellt wurde und von Zeit zu Zeit Proben mit der Pipette entnommen und analysiert wurden. Tabelle IV sowie Abb. 2 geben die Punkte solcher Versuche wieder, die an sechs Männchen ausgeführt wurden.

Tabelle IV. Verlauf der Ammoniakbildung im Blute normaler Kaninchen.

Datum	Temperatur °C	Das Blut enthält mg-Proz. Ammoniakstickstoff nach Verlauf von												
		5′	15′	30′	135′	208′	240′	250′	295′	1000′	1300′	1375′	1410′	1440′
24. VI.	21	0,05	—	—	0,65	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30. VI.	20	—	0,09	—	—	—	0,775	—	—	—	1,775	—	—	—
2. VII.	20	0,05	—	—	—	—	—	0,785	—	—	—	1,8	—	—
4. VII.	20	0,05	—	—	—	—	—	—	0,94	—	—	1,92	—	—
12. VII.	20	0,04	—	—	—	0,664	—	—	—	—	—	—	1,78	—
13. VII.	18	—	—	0,08	—	—	—	—	—	1,4	—	—	—	1,73

3. Der Temperaturkoeffizient.

Drei Proben desselben Blutes wurden unter Paraffin in drei Röhrchen verteilt; eine Probe im Wasserbade von 41°, eine bei 21°, eine dritte bei 1° gehalten. Tabelle V und Abb. 2 geben die Daten dieses Versuches wieder. Aus dem Reaktionsverlauf der ersten Stunden berechnet sich der Quotient $v_t/_{t+10}$ zwischen 0 und 20° zu 1,4, zwischen 20 und 40° zu 1,8.

4. Beeinflussung des Vorganges durch Sauerstoff.

Je 4 ccm Blut wurden in *Barcroft*schen Tonometern abgemessen, die Tonometer evakuiert und das Blut unter Rollen der Gefäße so lange dem Vakuum ausgesetzt, bis die Oxyhämoglobinlinien verschwanden. Dann wurde das eine Gefäß mit einem Gemisch von Luft mit 68 mm CO_2, das andere mit Stickstoff + 70 mm CO_2 gefüllt. Die Proben wurden ohne Öffnung des Gasraumes entnommen. Tabelle V gibt den Versuch wieder; seine Punkte sind in Fig. 2 eingezeichnet.

Tabelle V. Ammoniakbildung bei verschiedenen Temperaturen.

	Das Blut enthält mg-Proz. NH_3-Stickstoff nach Verlauf von					
	5′	80′	119′	134′	289′	296′
Bei 1°	0,05	—	0,3	—	—	—
„ 21°	—	—	—	0,65	1,4	—
„ 41°	—	1,375	—	—	—	1,7

Tabelle V.

Einfluß des Sauerstoffs ($t = 18°$).

In einer Atmosphäre von	Temperatur °C	Enthält das Blut mg-Proz. NH_3-Stickstoff nach Verlauf von						
	17,5	5′	172′	180′	1435′	1445′	1455′	2820′
Luft mit 68 mm CO_2 . .	—	0,03	0,72	—	1,32	—	—	1,88
N_2 mit 70 mm CO_2 . .	—	0,03	—	0,72	—	1,34	—	—
Luft mit 68 mm CO_2 . .	—	—	—	—	—	—	1,35	1,9

5. Lokalisation der Ammoniakbildung im Blute.

Es wurden 11,7 g Blut in 2 ccm Natriumoxalat-Ringerlösung aufgefangen, eine Probe sofort analysiert, während 8 ccm unter Paraffin zentrifugiert wurden. Das Blut enthält 0,035 mg-Proz. Ammoniak. Nachdem die Blutkörperchen auf 44 Proz. abgeschleudert sind, wird eine Plasmaprobe und eine Blutkörperchenprobe herauspipettiert, unter möglichster Schonung der leucocytenhaltigen Mittelschicht. Nach 4 Stunden wurde eine zweite Probe desselben Blutes, die mit den vorher getrennten Teilen im gleichen Wasserbade stand, ebenfalls durch Zentrifugieren getrennt, der Ammoniakgehalt des Plasmas sowie der Körperchen bestimmt. Tabelle VI sowie Fig. 3 gibt den Versuch wieder.

Tabelle VI.

Ammoniakbildung in Plasma und Blutkörperchen bei 20°.

	Es enthalten NH_3-Stickstoff in mg-Proz. nach Verlauf von							
	5′	203′	215′	274′	284′	1154′	1166′	1750′
Körperchen getrennt	—	—	1,73	—	—	—	2,67	—
Plasma getrennt	—	0,15	—	—	—	0,8	—	0,83
Körperchen mit Plasma gelassen	—	—	—	—	0,88	—	—	—
Plasma mit Körperchen gelassen	—	—	—	0,7	—	—	—	—
Blut	0,035	—	—	—	—	—	—	—

Aus den Daten dieser Versuche geht hervor, daß die Ammoniakbildung im Plasma und in den Blutkörperchen mit ganz verschiedenen Geschwindigkeiten vor sich geht. Die beiden Prozesse beeinflussen einander nicht und setzen sich additiv zur Ammoniakbildung im Blute zusammen. Im ungetrennten Blute verteilt sich das in den Körperchen gebildete Ammoniak durch Diffusion gleichmäßig auf Plasma und Körperchen.

6. *Herkunft des im Blute entstehenden Ammoniaks.*

Es lag der Gedanke nahe, zu prüfen, ob nicht Harnstoff die Muttersubstanz des im Blute gebildeten Ammoniaks ist, und ob nicht das Anwachsen der Ammoniakkonzentration die Ammoniakbildung zum Stillstand bringt. Blutproben wurden mit so viel Ammoniumsulfat versetzt, daß die Anfangskonzentration 2,4 mg-Proz. Ammoniakstickstoff betrug; das Ammoniumsalz wurde in Ringerlösung zugefügt, deren Reaktion auf $p_H = 7,4$ gebracht war. Andererseits wurde zu einer Blutprobe Harnstoff in Ringerlösung zugefügt, so, daß durch den Zusatz von 0,56 mg Harnstoffstickstoff auf den Kubikzentimeter der Harnstoffgehalt des Blutes mehr als verdoppelt wurde. Wie aus Tabelle VII zu ersehen ist, übte weder die Hinzufügung von Ammoniak noch die von Harnstoff einen Einfluß auf den Verlauf der Ammoniakbildung aus (vgl. Abb. 3).

Tabelle VII.

Beeinflussung der Ammoniakbildung durch Zusatz von Ammoniak und von Harnstoff.

Datum	Zum Blut zugesetzt	Temperatur	Das Blut enthält mg-Proz. Ammoniak nach Verlauf von								
		°C	5′	15′	240′	250′	265′	308′	1300′	1375′	1435′
30. VI.	0	18	—	0,04	0,755	—	—	—	1,775	—	—
30. VI.	2,4 mg-Proz. Ammoniakstickstoff	18	—	2,4	—	—	—	3,26	—	—	4,74
2. VII.	0	20	0,05	—	—	0,785	—	—	—	1,8	—
2. VII.	56 mg-Proz. Harnstoffstickstoff	20	—	0,09	—	—	0,81	—	—	1,78	—

Die Frage nach dem Ursprung des Ammoniaks wurde auch in der Weise untersucht, daß der Stickstoffgehalt des enteiweißten Blutes[1]) sowie an Harnstoffstickstoff vor und nach dem Ablauf der Ammoniakbildung bestimmt wurde.

Von einer frischen Blutprobe, die 15 Minuten nach der Entnahme 0,04 mg-Proz. enthielt, wurden 2 ccm (2 Minuten nach der Entnahme)

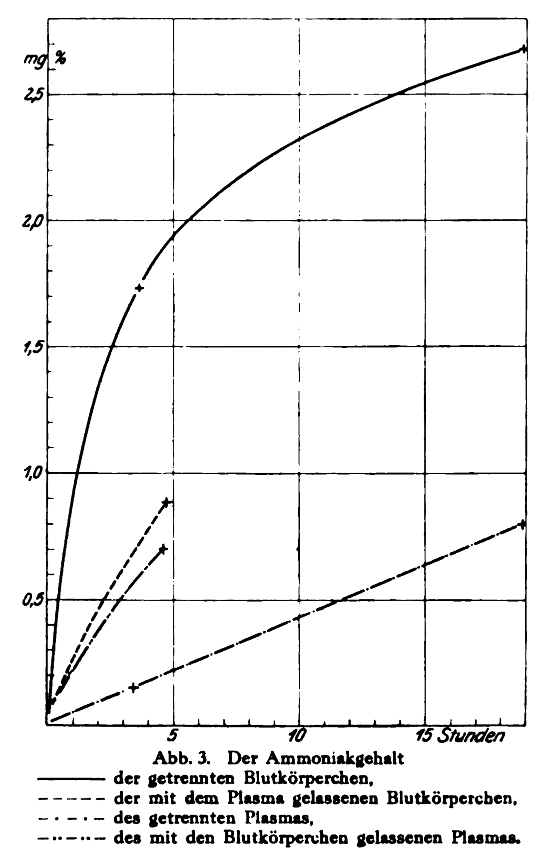


Abb. 3. Der Ammoniakgehalt
——— der getrennten Blutkörperchen,
– – – – der mit dem Plasma gelassenen Blutkörperchen,
– · – · – des getrennten Plasmas,
–··–··– des mit den Blutkörperchen gelassenen Plasmas.

nach *Folin* und *Wu* enteiweißt; eine Probe desselben Blutes blieb 18 Stunden im Wasserbade bei 20⁰ und wurde dann ebenso enteiweißt. Die Enteiweißung wurde mit größter Sorgfalt ausgeführt, die Zusätze mit der Wage kontrolliert.

[1]) Diese Bezeichnung wird hier in dem Sinne gebraucht, in welchem man gewöhnlich von Reststickstoff spricht. Die Bezeichnung „Reststickstoff" verwende ich, nach *Folin*, zur Bezeichnung des Stickstoffgehaltes unbekannter Art, der im enteiweißten Blute nach Abzug des Stickstoffs des Harnstoffs, der Harnsäure, des Ammoniaks, der Aminosäuren, Hippursäure und Kreatinins-Kreatins verbleibt.

In den eiweißfreien Filtraten *A* (sofort enteiweißt) und *B* (nach 18 Stunden enteiweißt) wurde Ammoniak, Stickstoff und (Harnstoff + Ammoniak-)stickstoff bestimmt, und zwar Ammoniak nach dem hier beschriebenen Verfahren (in 10 ccm Filtrat); Harnstoff mit Urease (*Arlco*) und *Folins* Phosphatgemisch zersetzt und in unserem Apparat das Ammoniak abdestilliert; Stickstoff, wie oben erwähnt, nach Verbrennung mit dem Reagens von *Folin* und *Wu* nach *Parnas* und *Wagner* destilliert. Der kolorimetrische Vergleich wurde im kleinen Eintauchkolorimeter von *Schmidt* und *Haensch* mit größter Sorgfalt ausgeführt.

Aus 100 ccm genuinen Blutes

	Filtrat *A*	Filtrat *B*
Ammoniakstickstoff . . . . mg	0,3	1,83
Harnstoffstickstoff . . . . . „	34,75	37,4
Gesamtstickstoff . . . . . . „	49, 48,7	49, 49,2

Aus diesem Versuch ist zu ersehen, daß unter den Bedingungen, unter welchen wir die Ammoniakbildung im Blute beobachtet, keine Abspaltung nichtkolloider Stickstoffverbindungen aus den Kolloiden des Blutes stattfindet, und daß demnach das Ammoniak aus einem der Bestandteile des Reststickstoffs entstammt. Von diesem unaufgeklärten Reststickstoff, der nach *Folin* und *Berglund*[1]) im Menschenblut durchschnittlich 13,7 mg-Proz. ausmacht, bildet die ammoniakgebende Substanz einen erheblichen Bruchteil; ihre Konzentration im Blute ist zumindest größer als die der Harnsäure oder des Kreatins-Kreatinins, und etwa $^1/_3$ des Aminosäurengehalts.

Aus dem angeführten Versuche ist zu ersehen, daß die Enteiweißung an sich eine Abspaltung von Ammoniak bewirkt. Dieser Punkt wurde in einem besonderen Versuche geprüft. Die zur Enteiweißung benutzten Reagenzien (Natriumwolframat von *Kahlbaum*, zur Analyse, mit Garantieschein, besonders stark molybdänhaltig, Schwefelsäure, mit besonderer Sorgfalt aufbewahrte Filter) ergaben bei der Destillation von 10 ccm Filtrat eine Ammoniakmenge, die einen Fehler von nur 0,02 mg-Proz. in die Analyse bringen würde.

In einem anderen Versuche wurden bei sofortiger Destillation 0,04 mg-Proz. gefunden, nach gleichzeitiger Enteiweißung 0,24, 0,26 mg-Proz. Eine Probe des enteiweißten Blutes, die 18 Stunden über dem Niederschlag gestanden hatte, ergab 0,36 mg-Proz., eine vom Niederschlag getrennte 0,30 mg-Proz.

7. Auf den Einfluß von Hämolyse und von Fluoridzusatz

beziehen sich die folgenden Versuche. Hämolyse wurde durch Gefrieren und Auftauen bewirkt, um keine Reagenzien hinzufügen zu müssen.

[1]) Journ. f. biol. Chem. 51, 418, 1912.

Ich konnte kein Saponin- oder Digitoninpräparat finden, das ammoniakfrei wäre. Während des Gefrierens und Auftauens wurde die unbeeinflußte Kontrolle auf Eis gehalten.

Von demselben Blute wurden 2 ccm mit 0,2 ccm Ringerlösung, 2 ccm mit Ringerlösung versetzt, die mit NaF gesättigt war. Die auf diese Proben bezüglichen Werte sind auf unverdünntes Blut umgerechnet.

Es enthalten 100 ccm Blut NH_3-N in mg:

Nach Verlauf von	Genuin	Hämolysiert	Mit Ringerlösung	Mit Na·F·
5′	0,04	—	—	—
3h28	0,664	—	—	—
3 42	—	0,65	—	—
3 46	—	0,67	—	—
5 15	—	—	—	0,78
5 30	—	—	0,86	—
23 30	1,78	—	—	—
23 40	—	1,63	—	—
24	—	—	—	4,81
24 20	—	—	1,76	—

8. Beeinflussung des Vorganges durch die Reaktion des Blutes.

Der Einfluß, welchen Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration auf den Verlauf der Ammoniakbildung ausüben, wurde bemerkt, als neben dem Hemmungsversuch mit Ammoniak ein paralleler mit veränderter Kohlensäurespannung ausgeführt wurde. Während die Ammoniakbildung in der unter Paraffin aufbewahrten Blutprobe und der mit Ammonsulfat versetzten ganz ähnlich verlief, blieb der Ammoniakgehalt in einer Probe, welche einem Luftgemisch mit 155 mm CO_2 ausgesetzt war, so weit zurück, daß er nach 20 Stunden nur 1,11 mg-Proz. betrug, während das genuine Blut gleichzeitig 1,77 mg-Proz. enthielt.

Um nicht wieder Reagenzien einzuführen, wurde die Wasserstoffionenkonzentration durch den Kohlendioxyddruck variiert. Das Blut wurde in horizontal gelegte *Barcroft*sche Tonometer pipettiert (3 bis 5 ccm) und durch Evakuieren schnell entgast, dann das untersuchte Gasgemisch eingefüllt; durch Drehen bei 20° wurde Sättigung bewirkt und dann die Tonometer in horizontaler Lage im Wasserbade gelassen. Bei allen Manipulationen wurde vermieden, das Blut mit dem Stopfen oder dem verjüngten (Hahn) Teil des Tonometers in Berührung kommen zu lassen. Vor der Ammoniakbestimmung wurden 20 ccm der Tonometerluft im großen Haldaneapparat auf CO_2 analysiert. Dann wurde 1 ccm Blut für die Analyse herauspipettiert und die Gasmischung erneuert.

Die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration wurde teils (nach Bestimmung der im Plasma gebundenen Kohlensäure) auf Grund der *Hasselbalch*-Gleichung berechnet,

dann aber meistens nach dem Prinzip von *Dale* und *Evans*[1]) bestimmt. Das Blut wurde in Schilfschläuchen unter Paraffin dialysiert, dann im Dialysat die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration[2]) mittels Thymolblau (Thymolsulfophthalein), Kresolrot (o-Kresolsulfophthalein), Phenolrot (Phenolsulfophthalein), Bromthymolblau (Dibromthymolsulfophthalein) und Bromkresolviolett (Dibrom-o-kresolsulfophthalein) bestimmt. Die Schilfschläuche sind in bezug auf Zartheit, Geschwindigkeit des Ausgleichs, Haltbarkeit (man kann Dutzende von Bestimmungen in einem Schlauch ausführen) für diesen Zweck ausgezeichnet geeignet.

Die Bestimmung wurde so ausgeführt, daß im Dialysat mittels Tröpfchenproben[3]) die Reaktion angenähert ermittelt wurde und dann genauer durch Vergleichen mit Borax-Borsäuregemischen nach *Palitzsch*[4]) und den geeigneten Indikatoren bestimmt wurde.

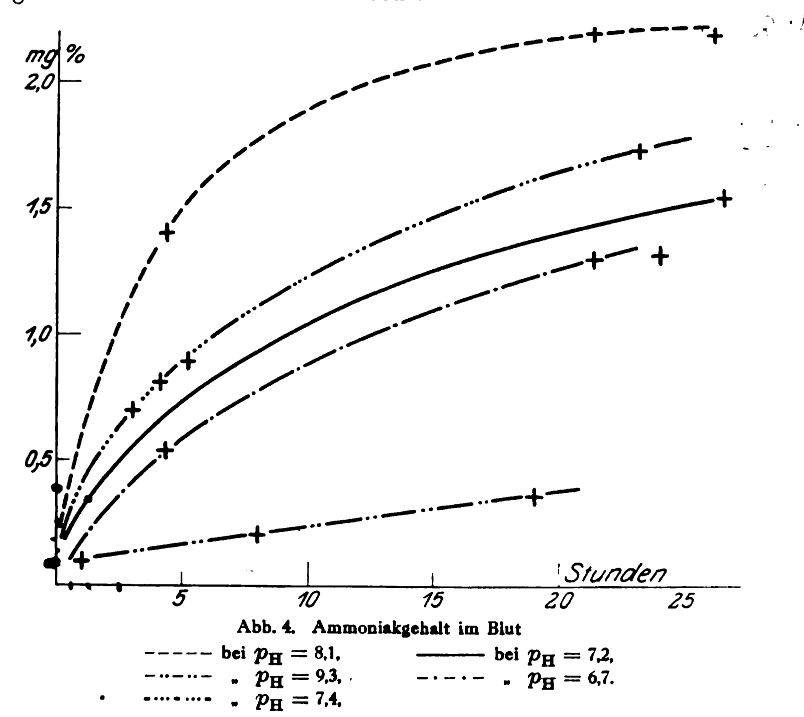


Abb. 4. Ammoniakgehalt im Blut

----- bei $p_H = 8,1$, ——— bei $p_H = 7,2$,
-··-··- „ $p_H = 9,3$, -·-·- „ $p_H = 6,7$.
········ „ $p_H = 7,4$,

Die Beobachtung, daß im Blute nur sehr langsam Ammoniak entsteht, wenn es mit dem alkalischen Boratpuffer versetzt ist, den wir

---

[1]) Journ. of Physiol. 54, 167, 1920. — [2]) *S. Clark*, The determination of Hydrogen Ions, 2. Aufl., 48, 125, 1923 (Baltimore). — [3]) Für die Ausführung von Reaktionsbestimmungen mit Indikatoren in Tröpfchen ist es nach unseren Erfahrungen am besten, die Tröpfchen auf eine Paraffinplatte zu setzen, die man erhält, wenn man Hartparaffin auf eine Petrischale ausgießt. Die Tröpfchen fließen dann nicht flach auseinander, sondern stehen fast kugelförmig auf dem Paraffin. — [4]) Diese Zeitschr. 70, 333, 1915.

bei der Destillation verwenden, führte zu einer Versuchsreihe, in welcher die Reaktion durch Zusatz von Borax-Borsäurelösungen nach *Palitzsch* variiert wurde. Die Bestimmung der p_H geschah dann, wie oben erwähnt, nach *Dale* und *Evans*.

Tabelle VIII und IX, sowie Abb. 4 geben die Versuche wieder, die sich auf den Einfluß der Reaktion auf die Ammoniakbildung beziehen.

Tabelle VIII.

Einfluß der Kohlensäurespannung auf die Ammoniakbildung im Blute ($t = 20^0$).

Datum	Kohlendioxydspannung mm	p_H	Ammoniakgehalt des Blutes in mg-Proz. nach Verlauf von								
			5′	250′	255′	265′	300′	310′	1282′	1395′	1450′
30. VI.	155	6,7	0,04	—	0,538	—	—	—	1,11	—	—
2. VII.	0,2	8,4	0,05	—	—	—	1,385	—	—	—	2,2
2. VII.	65	—	0,05	—	—	—	—	0,878	—	—	1,55
4. VII.	0,2	8,4	0,05	—	—	1,4	—	—	2,2	—	—
4. VII.	46	7,2	0,05	0,813	—	—	—	—	—	1,73	—

Tabelle IX.

Beeinflussung der Ammoniakbildung durch Reaktionsveränderungen in Boratlösungen. (Das Blut ist in diesen Versuchen mit dem gleichen Volumen Salzlösung verdünnt, der Ammoniakgehalt jedoch auf unverdünntes Blut umgerechnet.) $t = 18^0$.

Datum	p_H	Das Blut enthält mg-Proz. Ammoniakstickstoff nach Verlauf von								Art des Zusatzes
		40′	330′	338′	345′	475′	480′	1135′	1145′	
17. VII.	7,3	—	—	—	—	0,81	—	1,16	—	(1 Vol. Blut + 1 Vol. Ringerlösung)
18. VII.	7,3	0,34	—	0,785	—	—	—	—	—	*Palitzsch*-Lösungen (1,1 Vol.)
18. VII.	7,6	0,34	—	—	0,91	—	—	—	—	
18. VII.	8,8	—	0,415	—	—	—	—	—	—	
17. VII.	9,3	—	—	—	—	—	0,20	—	0,36	Borat nach *Parnas* und *Heller*, s. S. 8.

Diese Resultate sollen die Abhängigkeit der Ammoniakbildung vorläufig angenähert festlegen; eine genauere Bestimmung wird später folgen. Es ist bemerkenswert, daß das Optimum der Ammoniakbildung nicht bei der Reaktion des arteriellen oder venösen Blutes liegt, sondern bei der Reaktion des entgasten Blutes. Die Geschwindigkeit der Ammoniakbildung nimmt zu, wenn die Wasserstoffionenkonzentration von der des genuinen Blutes abfällt, geht durch ein Maximum und fällt bei weiterem Abfall jenseits des Maximums sehr steil ab.

Vielleicht hat dieser Faktor, d. h. die zunehmende Alkalinität des unbedeckten Blutes, bei 38° die Beschleunigung der Ammoniakbildung bewirkt, die *Medwedew* in seinen Versuchen am Hundeblut beobachtet hat[1]).

V.

O. Folin hat vor kurzer Zeit den Stand der Blutammoniakfrage folgendermaßen charakterisiert:

„Infolge der außerordentlichen Schwierigkeiten, welche die Ammoniakbestimmung im Blute bietet, ist die Literatur des Gegenstandes größtenteils mit der Betrachtung der analytischen Verfahren beschäftigt, und es gibt nach mehr als 20jährigen Bemühungen immer noch keine allgemein angenommene Methode. Unklare Punkte, wie der Ammoniakgehalt jeder Art Kaliumoxalat und die praktische Unmöglichkeit, diese Verunreinigung durch Umkristallisieren zu beseitigen, die hartnäckige Anwesenheit von Ammoniak in jeder Probe von Äthylalkohol und Methylalkohol, die Ammoniakbildung im Blute beim Stehen oder bei Anwendung von Wärme: all dieses trug zur Publikation von Werten für den Ammoniakgehalt des Blutes bei, die um Hunderte von Prozenten differieren. Die wahren Werte für das Blut bleiben deshalb unsicher; und die Unsicherheit ist durch die Tatsache erhöht, daß Menschenblut wesentlich die gleichen Werte zeigt wie das von Pflanzenfressern und Fleischfressern und auch wesentlich die gleichen, ob das Blut von normalen Personen stammt oder von solchen, die besonders große Ammoniakmengen ausscheiden[2])".

Die vorliegenden Ergebnisse lassen die Resultate früherer Forschungen in etwas anderem Lichte erscheinen. Als einzige Fehlerquelle erscheint in den Untersuchungen der Tabelle I (Nr. 4 ausgenommen) die Ammoniakbildung im Blute; die gefundenen Werte müssen zwischen 0,02 mg-Proz. und etwa 2,5 mg-Proz. liegen, je nachdem die Isolierung des Ammoniaks länger oder kürzer dauert, je nach der Temperatur und der Reaktion, bei welcher sie stattfindet.

Der Umstand, daß die Werte aus den Untersuchungen so vieler Forscher — auch der ersten, unter (21) und (23) genannten Arbeiten von *Nencki*, *Zaleski* und *Pawlow* — in den genannten Grenzen liegen, spricht gegen die Annahme von besonderen, durch verunreinigte Reagenzien hineingetragenen Fehlern. Ja, man hat fast den Eindruck, daß die ersten Arbeiten von *Nencki* und *Zaleski* auch nur das Ammoniak bestimmten, welches sich aus der hier betrachteten ammoniakabspaltenden Substanz des Blutes bildet: denn auch diese Werte liegen für das arterielle

[1]) l. c.

[2]) Phys. Rev. 2, 467, 1922 (Baltimore). Es folgt die Besprechung der Arbeit von *Nash* und *Benedict*, l. c., Tabelle I, Nr. 17.

Blut zwischen 0,38 mg-Proz. (hungernde Hunde) und 2,7 mg-Proz. (gefütterte Hunde). Vielleicht bildete die in diesen Arbeiten angewandte Alkalisierung mit Kalk gar keine so große Fehlerquelle, als die sie von *Biedl* und *Winterberg* und später auch von *Nencki* und *Zaleski* angesehen wurde; denn diese Ansicht gründete sich auf die Wirkung viel größerer Kalkmengen.

Weitere experimentelle und klinische Anwendungen der neuen Methode und der Erfahrungen über Ammoniakbildung im Blute werden zeigen, ob der aktuelle Ammoniakgehalt des Blutes in physiologischer und pathologischer Beziehung von Interesse ist. Neben dem Interesse an dem aktuellen Ammoniakgehalt tritt aber das Interesse an der ammoniakabspaltenden Substanz hervor. Die Verschiedenheiten im Ammoniakgehalt, die unter Anwendung älterer Methoden gefunden wurden, je nachdem das Blut aus verschiedenen Organen oder bei verschiedenen Zuständen des Organismus entstammte, legen es nahe, den Bedingungen des Gehalts an ammoniakgebender Substanz nachzugehen.

Welcher Art mag diese Substanz sein? Sie gehört zu den Stickstoffverbindungen des enteiweißten Blutes und scheint mit den Funktionen des Hämoglobins nichts zu tun zu haben, denn ihre Molarkonzentration beträgt nur etwa $^1/_{10}$ von der des Hämoglobins. Harnstoff, der im Blute anscheinend sehr stabil ist, kommt, wie oben ausgeführt, als Muttersubstanz nicht in Frage. Es fällt schwer, im Blute anoxybiotische Desaminierung der Aminosäuren anzunehmen, die nach Untersuchungen von *K. Rzetkowski*[1]), sowie *O. Folin* und *H. Berglund*[2]) in den roten Blutkörperchen konzentriert sind[3]). Oder sollten in den Blutkörperchen unstabile, vielleicht durch lose Bindung leicht stabilisierte Oxydationsprodukte der Aminosäuren, oder deren Derivate transportiert werden, um in anderen Organen in Aminosäuren oder stickstofffreie Stoffe umgewandelt zu werden? Auch muß man an Purinkörper denken, besonders da vor kurzem das Adeninnucleotid im Blute gefunden worden ist[4]); da aber von den fünf Stickstoffatomen dieses Nucleotids nur eins für die Ammoniakabspaltung in Betracht kommt, und der Gehalt an diesem Stoff nur etwa für 3 bis 5 mg-Proz. Stickstoff entspricht, so würde seine Menge nicht genügen, um die Ammoniakbildung im Blute zu erklären.

Bei der großen Gesetzmäßigkeit, mit welcher der Vorgang der Ammoniakbildung im Blute erfolgt, bei der Geschwindigkeit, mit

---

[1]) Badania nad zachowaniem się aminokwasów. Warschau 1915.

[2]) Journ. of biol. Chem. **51**, 395, 1922.

[3]) Die Betrachtungen von *G. Ahlgren* (C. r. Soc. biol. **90**, 1187, 1924) über die Desaminierung der Asparaginsäure scheinen mir eher dafür zu sprechen, daß diese Desaminierung nicht über die Ketonsäure geht, als dafür, daß sie anoxybiotisch bzw. ohne intermediäre Dehydrogenisierung verliefe.

[4]) Journ. of biol. Chem. **57**, 121, 1923.

welcher er bei Körpertemperatur und bei Einhaltung der Blutreaktion stattfindet und zu Ende geht, scheint es uns berechtigt zu sein, diesen Vorgang als ein Glied in der Kette des intermediären Stoffwechsels zu betrachten. Weitere Versuche werden nähere Aufklärungen bringen müssen; in dieser Arbeit wollten wir nur die Umrisse aufdecken.

VI. Zusammenfassung.

Es wird eine Methode beschrieben, die es ermöglicht, den Ammoniakgehalt in 1 bis 2 ccm Blut innerhalb weniger Minuten zu bestimmen, ohne die Temperatur des Blutes über 25° zu erhöhen.

Diese Methode beruht auf der Anwendung der Wasserdampfdestillation im Vakuum und einer solchen Alkalisierung des Blutes, welche zugleich das Ammoniak aus seinen Salzen austreiben läßt und die fermentative Abspaltung des Ammoniaks aus einer unbekannten Muttersubstanz hemmt.

Mittels dieser Methode wird der Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Kaninchenblut untersucht.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von *Folin* und *Denis* (Katze), *Barnett* (Mensch) und *Nash* und *Benedict* (Hund), im Gegensatz zu allen anderen Forschern, werden im frischen Blute gefütterter erwachsener und junger Männchen Werte für den Ammoniakgehalt gefunden, die unter 0,05 mg in 100 ccm Blut liegen. Trächtige Weibchen und Hungertiere weisen einen höheren Ammoniakgehalt auf.

Der Ammoniakgehalt des isolierten Blutes ändert sich jedoch mit jeder Minute, infolge einer schnell und gesetzmäßig erfolgenden Ammoniakbildung. Diese Ammoniakbildung wird in ihrer Abhängigkeit von Temperatur, Reaktion, Verdünnung studiert, und es wird versucht zu ermitteln, welcher Art die Muttersubstanz des Ammoniaks ist.

Das im Blute gebildete Ammoniak scheint aus einer Substanz zu entstehen, die zu der Stickstoffverbindung des enteiweißten Blutes gehört. Es entsteht jedoch nicht aus Harnstoff. Seine Entstehung im genuinen Blute, dessen Entgasung verhindert wird, verläuft wie eine Reaktion, die durch Verbrauch der zersetzten Substanz an Geschwindigkeit abnimmt und zum Stillstand kommt; durch Ammoniakzusatz wird sie nicht merklich gehemmt, durch Harnstoffzusatz nicht beschleunigt.

Bei optimalen Bedingungen kommt die Reaktion bei einem Ammoniakgehalt des Blutes von 2,2 mg-Proz. zum Stillstand.

Die Ammoniakbildung im Blute erfolgt hauptsächlich in den Erythrocyten, daneben entsteht jedoch auch Ammoniak im Plasma.

Der Temperaturkoeffizient der Ammoniakbildung wurde bestimmt.

Hämolyse beeinflußt den Vorgang nicht, Verdünnung verlangsamt ihn.

Wenn die Wasserstoffzahl des genuinen Blutes durch höhere Kohlendioxydspannung verringert wird, so verläuft die Ammoniakbildung langsamer, bei Erhöhung der Wasserstoffzahl durch niedrigere Kohlensäurespannung wird sie beschleunigt. Sie hat ihr Optimum bei der Reaktion des entgasten Blutes. Fällt die Wasserstoffionenkonzentration unter die des entgasten Blutes, so erfolgt eine Hemmung der Ammoniakbildung. Davon wird in der Methode der Ammoniakbestimmung Gebrauch gemacht.

Die Ammoniakbildung im Blute ist ein vom Sauerstoffdruck unabhängiger Vorgang.

Die Ausführung dieser Untersuchung wurde durch die reiche Hilfe ermöglicht, welche die *Rockefeller-Foundation* diesem Institut zukommen ließ.

Über die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe.

III. Mitteilung:

Über die Beteiligung der akzessorischen Nährstoffe an der spezifisch-dynamischen Fleischwirkung.

Von

Kenzuke Miyazaki und J. Abelin.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 17. August 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die spezifisch-dynamische Wirkung stellt eine Reaktion des Organismus auf die sich bei der Zerlegung der Nahrungsstoffe abspielenden chemischen Prozesse dar. Der Verlauf des ganzen Vorganges hängt sowohl von der Reaktionsfähigkeit des Organismus als auch von der chemischen Natur des Nahrungsmittels ab. Diese beiden Momente, das biologische und das chemische, müssen scharf auseinandergehalten werden, sie waren auch richtungsgebend für die früher von uns durchgeführten Untersuchungen[1]). Es hat sich dort zeigen lassen, daß der Zustand des vegetativen Nervensystems bestimmend ist für die Größe der spezifisch-dynamischen Wirkung. Nach Verfütterung von wirksamen Schilddrüsenstoffen wurde die spezifisch-dynamische Wirkung des Fleisches und des Rohrzuckers verdoppelt und verdreifacht. Am Beispiel der Fette und einiger Kohlehydrate haben wir ferner zeigen können, daß sogar Stoffe, die normalerweise entweder überhaupt nicht oder nur unwesentlich spezifisch-dynamisch wirken, nach der Schilddrüsenbehandlung die Oxydationsvorgänge mächtig anregen. In vorliegender Arbeit haben wir die Bedeutung der chemischen Natur der Nahrungsstoffe für die spezifisch-dynamische Wirkung weiter verfolgt und am Beispiel des rohen und des vitaminfreien Fleisches die Beteiligung der akzessorischen Nährstoffe an dem Zustandekommen der spezifisch-dynamischen Wirkung studiert. In zahlreichen Versuchen haben wir feststellen können, daß nach Entfernung der Vitamine das Fleisch schwächer spezifisch-dynamisch wirkt. In Abb. 1 sind die

---

[1]) Vgl. Mitteilung I und II, diese Zeitschr. 137 und 149, und Klin. Wochenschr. 1922, S. 2188.

Mittelwerte a) des normalen Ruheumsatzes, b) der spezifisch-dynamischen Wirkung des rohen Fleisches und c) der spezifisch-dynamischen Wirkung der gleichen Menge vitaminfreien Fleisches aufgezeichnet. Die Zahlen bedeuten die Kalorienproduktion pro Kilogramm und Stunde. Man erkennt leicht, daß die spezifisch-dynamische Wirkung des vitaminfreien Fleisches geringer ist als diejenige des rohen Fleisches. Bei

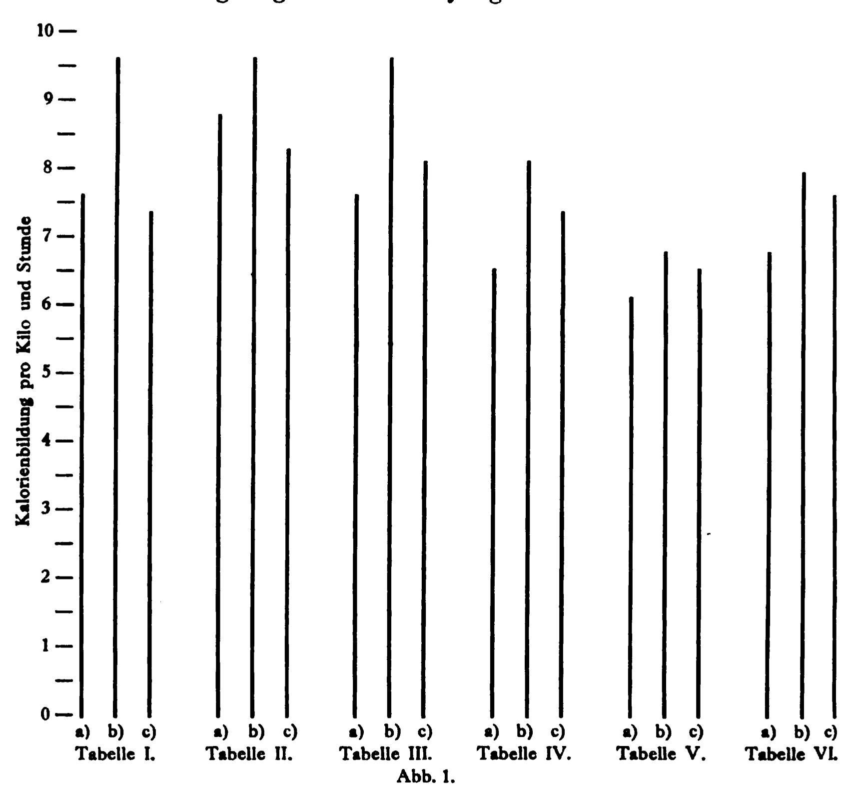


Abb. 1.

a) Mittelwert des normalen Ruheumsatzes. b) Mittelwert der spezifisch-dynamischen Wirkung des rohen Fleisches. c) Mittelwert der spezifisch-dynamischen Wirkung des vitaminfreien Fleisches.

manchen Tieren hat das vitaminfreie Fleisch überhaupt keine spezifisch-dynamische Wirkung entfaltet, in einigen Fällen war der Gaswechsel nach Aufnahme des vitaminfreien Fleisches sogar noch geringer als beim Ruheumsatz.

Von den Vitaminfraktionen kommt dem alkohol-ätherlöslichen Anteil größere Bedeutung als dem wasserlöslichen Faktor zu. Fleisch, welches nur mit Wasser extrahiert wurde und auch gekochtes Fleisch haben fast ebenso stark spezifisch-dynamisch wie rohes Fleisch gewirkt.

Die große Bedeutung der akzessorischen Nährstoffe für die Stoffwechselvorgänge ist eine bekannte und sichergestellte Tatsache. So

hat *Abderhalden*[1]) an Tauben nachweisen können, daß nach einer längeren vitaminfreien Ernährungsperiode eine Abnahme des Sauerstoffverbrauchs eintritt. Auch die Zellatmung steht nach neueren Untersuchungen von *W. R. Hess*, *E. Abderhalden*, *P. György* u. a. mit den akzessorischen Nährstoffen in Zusammenhang. Die Bedeutung der akzessorischen Nährstoffe für die einzelnen Teile des Stoffwechselprozesses wurde von *A. Bickel* und seinen Mitarbeitern in zahlreichen Untersuchungen verfolgt. Nach *Bickel*[2]) ist bei der Avitaminose die Zerlegung und die Resorption der Nahrungsstoffe nicht geschädigt. Nach seiner Auffassung ist beim Fehlen des Vitamins die Bindungsfähigkeit des Protoplasmas für die Nährsubstanzen herabgesetzt. Auch unsere Versuche deuten darauf hin, daß die Verwertung der Nahrungsstoffe vom Vitamingehalt abhängig ist, und wir betrachten die Verfolgung der spezifisch-dynamischen Wirkung als eine einfache Methode, die uns die biologische Bedeutung der „Erhaltungsstoffe" (*Abderhalden*) für die Stoffwechselprozesse deutlich zeigt.

Experimenteller Teil.

Das vitaminfreie Fleisch wurde nach den üblichen Methoden dargestellt. Fettfreies Rindfleisch wurde vom Bindegewebe befreit und mit Wasser längere Zeit ausgekocht. Das Fleisch wurde darauf fein zerhackt und 2 Tage lang unter fließendem Wasser gelassen. Die getrocknete Masse wurde 2 Tage lang mit siedendem Alkohol und dann 5 Tage lang mit Alkohol bei Zimmertemperatur extrahiert. Der Alkohol wurde durch Trocknen bei niederer Temperatur entfernt und das Fleischpulver zuerst 2 Tage mit siedendem Äther und dann 5 Tage lang mit Äther von Zimmertemperatur extrahiert. Der Äther wurde verjagt und das Fleisch wieder 2 Tage lang unter fließendem Wasser gelassen. Dieses Auswaschen ist nötig, um die letzten Spuren von Alkohol und Äther zu beseitigen. Das so vorbereitete Fleischpulver wurde dann bei 35 bis 40° getrocknet und in einem gut schließenden dunklen Gefäß aufbewahrt.

Die Versuche wurden an Ratten ausgeführt. Die benutzte Methodik ist in den früheren Mitteilungen beschrieben. In zahlreichen Blindversuchen wurden die Tiere an die Versuchsbedingungen gewöhnt.

Die Versuchsanordnung war die gleiche wie bei den früheren Untersuchungen: Es wurde zuerst der Ruheumsatz bei 28°, d. h. bei ausgeschalteter chemischer Wärmeregulation (Erhaltungsumsatz) ermittelt. Die Tiere erhielten dann eine abgewogene Menge Fleisch und die Steigerung des Stoffwechsels wurde mit dem vorher ermittelten Erhaltungsumsatz verglichen. Die Tabelle I enthält Vergleichsversuche mit rohem und mit vitaminfreiem Fleisch. Nach Ermittlung des Erhaltungsumsatzes wurde

---

[1]) *E. Abderhalden*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **187**, 80; vgl. auch **182** und **185**.

[2]) *A. Bickel*, Klin. Wochenschr. Nr. 3, 1922; *M. Tsuji*, diese Zeitschr. **129**; *J. A. Collazo*, ebendaselbst **134**; *Rubino* und *Collazo*, diese Zeitschr. **141**, S. 258; *E. Bürgi*, Deutsche med. Wochenschr. 1922; vgl. auch *F. Groebbels*, Zeitschr. f. physiol. Chemie 1922—1924.

das Tier am 13. Juni mit 5 g rohem Rindfleisch gefüttert. Die spezifisch-dynamische Wirkung wurde in Versuchen von je 1 Stunde Dauer verfolgt. Die Stoffwechselerhöhung beträgt 15 bis 23 Proz. Am 15. Juni finden wir in den ersten Stunden nach Fleischaufnahme Stoffwechselsteigerungen von 17 bis 36 Proz. Auf die Zufuhr von vitaminfreiem Fleisch reagiert das Tier ganz anders. Wir finden am 2. Juli in den ersten Stunden nach Aufnahme von 1,0 g vitaminfreien Fleisches (= 5 bis 5,5 g rohen Fleisches) keine spezifisch-dynamische Wirkung. Nur in der vierten Stunde ist der Stoffwechsel um 20 Proz. erhöht, um dann aber in der nachfolgenden Stunde bedeutend geringer zu werden[1]). Der Mittelwert aus dem 6-Stundenversuch beträgt 7,75 Cal pro Kilogramm und Stunde, übertrifft also den Erhaltungsumsatz bloß um 3 Proz. Der Versuch vom 9. Juli ergibt ungefähr das gleiche Bild. In den Versuchen 1042 bis 1060 ist die spezifisch-dynamische Wirkung des vitaminfreien Fleisches fast durchweg gleich Null. Am deutlichsten spricht ein Vergleich der *Mittelwerte* der einzelnen Versuchsabschnitte. Wir finden folgendes:

	g CO_2	g O_2	Kalorien
	pro kg und Stunde		
a) Erhaltungsumsatz (Mittelwert)	2,32	2,22	7,52
b) Nach Aufnahme von rohem Fleisch (Mittelwert)	3,03	2,75	9,36
c) Nach Aufnahme v. vitaminfreiem Fleisch (Mittelwert)	2,46	2,12	7,22

Im Durchschnitt ergibt also die Verfütterung des rohen Fleisches eine spezifisch-dynamische Wirkung von 24,5 Proz. (9,36 Cal gegen 7,52 Cal), nach Zufuhr von vitaminfreiem Fleisch finden wir sogar eher eine Herabsetzung des Gaswechsels (7,22 Cal gegen 7,52 Cal), die allerdings unbedeutend ist.

Die Tabelle II faßt die Versuche an einer weiblichen Ratte zusammen. Diese Tier hat im allgemeinen auf die Zufuhr von rohem Fleisch weniger intensiv reagiert. Der höchste Wert der spezifisch-dynamischen Wirkung beträgt 25 Proz., im allgemeinen aber bewegt er sich bei diesem Tier um etwa 10 Proz. herum. Nach Verfütterung von vitaminfreiem Fleisch finden wir durchweg entweder gar keine oder eine nur unbedeutende Erhöhung des Gaswechsels. Im Vergleich mit dem Ruheumsatz ist der Gaswechsel im Durchschnitt nach vitaminfreiem Fleisch ebenfalls etwas vermindert (8,02 Cal gegen 8,65 Cal). Der Mittelwert der spezifisch-dynamischen Wirkung des rohen Fleisches beträgt 10 Proz. Solche individuelle Unterschiede sieht man bei den Tieren sehr häufig. Sie ergeben sich auch bei der Verfolgung der Tabelle III. Hier handelt es sich gerade um ein Tier, welches auf die Fleischaufnahme mit einer sehr bedeutenden Steigerung des Gaswechsels reagiert hat: Die spezifisch-dynamische Wirkung geht in manchen Stunden auf 50 bis 60 Proz. herauf. Die Aufnahme von vitaminfreiem Fleisch löste auch bei diesem Tier viel geringere Erhöhungen des Gaswechsels aus. Nur an vereinzelten Stunden sieht man beträchtliche Zunahmen des Gaswechsels, im Durchschnitt ist aber die Kalorienproduktion nach vitaminfreiem Fleisch gegen den Normalwert nur unwesentlich erhöht (8,02 Cal gegenüber 7,72 Cal).

[1]) Solche Senkungen des Gaswechsels nach Nahrungsaufnahme sind bekannt (vgl. *Magnus-Levy*, Pflügers Arch. 55, 1, 1894; *Johansson*, Skandin. Arch. f. Phys. 21, 1, 1908).

Im Laufe dieser Untersuchungen konnte oftmals festgestellt werden, daß manche Tiere auf die *erstmalige Zufuhr* des vitaminfreien Fleisches stärker reagieren als in der Folge. Ähnliche Beobachtungen wurden auch bei der erstmaligen Eingabe seltenerer Kohlehydrate gemacht. Worauf diese Tatsache zurückzuführen ist, läßt sich nicht angeben. Man könnte an eine mangelhafte Anpassung der Fermentproduktion denken. So weist *Junkersdorf*[1]) darauf hin, daß nach älteren Versuchen von *Weinland*[2]) der Pankreassaft nur nach ausgedehnter Milchfütterung den Milchzucker zu spalten vermag, während nach längerer Milchkarenz der Milchzucker durch den Pankreassaft nicht zerlegt wird. In Tabelle IV finden wir folgendes interessante Verhalten. Bei der erstmaligen Verfütterung von 1,5 g vitaminfreien Fleisches (etwa 7,5 bis 8,0 g rohen Fleisches) sehen wir ganz bedeutende Zunahmen des Gaswechsels (Versuch vom 28. Juni). Etwa 2 Wochen darauf erhielt das Tier wiederum vitaminfreies Fleisch. Auch diesmal war die spezifisch-dynamische Wirkung ganz erheblich. Als nun in den nachfolgenden Tagen vitaminfreies Fleisch verabreicht wurde, war die spezifisch-dynamische Wirkung viel geringer (vgl. die Versuche vom 11., 12., 13. und 16. Juli). Im großen und ganzen hat aber unzweifelhaft dieses Tier auf das vitaminfreie Fleisch stärker reagiert als die Tiere der Tabellen I, II und III.

Die Tabellen V und VI enthalten Parallelversuche, die nach einem gemeinsamen Plan an zwei Tieren durchgeführt wurden. Es wurde zuerst der Nüchternumsatz bei 28° ermittelt und die spezifisch-dynamische Wirkung von rohem, von gekochtem und von vitaminfreiem Fleisch miteinander verglichen. Darauf wurden die Tiere mit kleinen Mengen von Schilddrüse gefüttert und die spezifisch-dynamische Wirkung dieser drei Fleischarten wieder festgestellt. Aus Tabelle V ersehen wir, daß das vitaminfreie Fleisch auch bei diesem Tier schwächer spezifisch-dynamisch wirkt, als das rohe oder das gekochte Fleisch. Im Durchschnitt ergab das vitaminfreie Fleisch eine Stoffwechselerhöhung von nur 4 Proz., das rohe Fleisch eine solche von 13 Proz. und das gekochte Fleisch von 12,4 Proz. Nach Verfütterung von kleinen Schilddrüsenmengen nimmt die spezifisch-dynamische Wirkung des rohen Fleisches zu und beträgt nun 20, 28 und 29 Proz. Diese Erscheinung wurde in einer früheren Mitteilung ausführlich behandelt[3]). Beim vitaminfreien Fleisch finden wir nur am 24. Dezember nach Zufuhr von 2 g davon (= 10 g rohen Fleisches) eine Stoffwechselerhöhung von 20 Proz. In den nachfolgenden Versuchen ist die spezifisch-dynamische Wirkung entweder sehr gering (3,7 Proz.) oder sie fehlt überhaupt (Versuche vom 4. und 11. Januar).

Ein sehr ähnliches Bild ergibt auch der Versuch der Tabelle VI, allerdings mit der Abweichung, daß der Unterschied der spezifisch-dynamischen Wirkung des rohen und des vitaminfreien Fleisches besonders nach der Schilddrüsenbehandlung zum Ausdruck kommt. Auch bei diesem Tier findet man am 24. Dezember nach 2,0 g vitaminfreiem Fleisch (= 10 g rohen Fleisches) eine spezifisch-dynamische Wirkung von 22 Proz. In den nachfolgenden Versuchstagen sinkt die spezifisch-dynamische Wirkung auf 5 bis 8 Proz. Die Zunahme der spezifisch-dynamischen Fleischwirkung nach Schilddrüsenzufuhr ist auch bei diesem Tier deutlich ausgesprochen (vgl. Versuche 1202, 1205, 1207).

---

[1]) *P. Junkersdorf*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **30**, 110. 1922.
[2]) *E. Weinland*, Zeitschr. f. Biol. **38** und **40**.
[3]) *J. Abelin*, diese Zeitschr. **137**, 273.

Tabelle I.

Nr.	Datum 1923	Präparat. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Aufnahme g
1021	30. V.	Nüchtern	0,83	0,93	0,89
1022	1. VI.	"	0,99	1,32	1,17
1023	5. VI.	"	0,87	1,09	1,06
1024	13. VI.	"	0,96	0,84	0,83
1025	13. VI.	$1^2/_3$	0,33	0,41	0,36
1026	13. VI.	$2^2/_3$	0,36	0,39	0,35
1027	13. VI.	$3^2/_3$ } Std. nach Aufnahme von 5 g Rindfleisch	0,33	0,36	0,33
1028	15. VI.	2	0,34	0,40	0,34
1029	15. VI.	3	0,33	0,42	0,40
1030	15. VI.	4	0,42	0,41	0,39
1031	2. VII.	1	0,24	0,30	0,30
1032	2. VII.	2	0,10	0,32	0,30
1033	2. VII.	3 } Std. n. Aufn. v. 1 g vitaminfr. Fleisches	0,25	0,28	0,27
1034	2. VII.	4	0,22	0,37	0,34
1035	2. VII.	5	0,28	0,32	0,25
1036	2. VII.	6	0,19	0,34	0,33
1037	9. VII.	1 Std. n. Aufn. v. 1 g vitaminfr. Fleisches, 2. Std.	0,16	0,35	0,35
1038	9. VII.	3. "	0,29	0,36	0,34
1039	9. VII.	4. "	0,28	0,44	0,43
1040	9. VII.	5. "	0,25	0,40	0,38
1041	9. VII.	6. "	0,23	0,32	0,28
1042	11. VII.	$^2/_3$ Std. n. Aufn. von 0,9 g vitaminfr. Fl., 1. "	0,19	0,34	0,34
1043	11. VII.	2. "	0,19	0,32	0,31
1044	11. VII.	3. "	0,21	0,30	0,29
1045	11. VII.	4. "	0,22	0,33	0,32
1046	11. VII.	5. "	0,20	0,29	0,28
1047	11. VII.	6. "	0,20	0,30	0,29
1048	12. VII.	$^2/_3$ Std. n. Aufn. von 1,0 g vitaminfr. Fl., 1. "	0,20	0,33	0,31
1049	12. VII.	2. "	0,20	0,33	0,31
1050	12. VII.	3. "	0,17	0,31	0,29
1051	12. VII.	4. "	0,21	0,34	0,33
1052	12. VII.	5. "	0,18	0,41	0,39
1053	12. VII.	6. "	0,24	0,35	0,33
1054	13. VII.	$^2/_3$ Std. n. Aufn. v. 1,2 g vitaminfr. Fl., 1. bis 3. "	0,55	0,76	0,68
1055	13. VII.	4. bis 5. "	0,46	0,67	0,62
1056	16. VII.	$^1/_2$ Std. n. Aufn. von 1,0 g vitaminfr. Fl., 1. "	0,16	0,27	0,26
1057	16. VII.	2. "	0,20	0,26	0,25
1058	16. VII.	3. "	0,13	0,27	0,26
1059	16. VII.	4. bis 5. "	0,36	0,59	0,57
1060	16. VII.	6. bis 7. "	0,34	0,56	0,54

Tabelle II.

Nr.	Datum 1923	Präparat. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Aufnahme g
1061	2. VI.	Nüchtern	0,87	0,94	0,86
1062	4. VI.	"	0,82	0,97	0,91
1063	6. VI.	"	1,25	0,88	0,89
1064	8. VI.	"	0,51	0,61	0,56
1065	14. VI.	$^2/_3$ Std. nach Aufn. von 5 g Rindfleisch, 1. Std.	0,46	0,34	0,31
1066	14. VI.	2. "	0,37	0,38	0,35
1067	14. VI.	3. "	0,55	0,39	0,32

[illegible]te, Männchen.

[illegible]	CO_2	O_2	Kalorienbildung pro Kilo und Stunde	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung	Gewicht der Ratte	Dauer des Versuchs	Temperatur des Kastens
	pro Kilo und Stunde			pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden						
	g	g					Proz.	g	Std.	°C
0,[illegible]9	2,33	2,23	7,55					101,90	4	28
[illegible]9	2,46	2,13	7,29					107,20	5	28
0[illegible]7	2,31	2,24	7,58					118,20	4	28
[illegible]5	2,18	2,16	7,28	2,32	2,22	7,52		128,50	3	28
0,[illegible]27	3,13	2,75	9,23				23	130,8	1	28
[illegible]9	2,99	2,68	9,17				22	130,4	1	28
[illegible]2	2,77	2,54	8,65	2,96	2,63	9,01	15	129,95	1	28
[illegible]5	3,01	2,57	8,85				17,3	132,6	1	27—28
[illegible]3	3,18	3,03	10,25				36,3	132,20	1	27—28
[illegible]6	3,11	2,95	10,05	3,10	2,85	9,71	33,8	131,8	1	28
[illegible]6	2,14	2,14	7,22				0	129,90	1	28
[illegible]7	2,47	2,31	7,80				4	129,70	1	28
[illegible]3	2,16	2,09	7,05				0	129,5	1	28
[illegible]0	2,86	2,63	8,96				20	129,2	1	28
[illegible]0	2,48	1,94	6,78				0	129,0	1	28
[illegible]8	2,64	2,57	8,67	2,49	2,31	7,75	15,5	128,6	1	28
[illegible]6	2,37	2,37	7,99				1,6	147,51	1	28—29
[illegible]9	2,44	2,31	7,83				0	147,36	1	28—29
[illegible]3	2,99	2,92	9,87				25,6	147,05	1	28—29
[illegible]5	2,73	2,59	8,80				11,9	146,76	1	28—29
[illegible]0	2,75	1,91	6,41	2,66	2,42	8,18	0	146,49	1	28—29
[illegible]6	2,29	2,29	7,73				0	148,02	1	27—28
[illegible]0	2,16	2,10	7,09				0	147,83	1	27—28
[illegible]2	2,03	1,96	6,64				0	147,63	1	27—28
[illegible]9	2,24	2,17	7,34				0	147,41	1	27—28
[illegible]2	2,48	1,90	6,43				0	147,18	1	27—28
[illegible]4	2,04	1,97	6,65	2,21	2,08	6,98	0	146,97	1	27—28
[illegible]3	2,20	2,07	7,01				0	149,94	1	27—28
[illegible]3	2,20	2,07	7,03				0	149,72	1	27—28
[illegible]7	2,07	1,94	6,59				0	149,50	1	27—28
[illegible]8	2,28	2,21	7,48				0	149,31	1	27—28
[illegible]4	2,75	2,61	8,86				12,7	149,09	1	27—28
[illegible]1	2,35	2,22	7,52	2,31	2,19	7,42	0	148,89	1	27—28
0,[illegible]1	2,02	1,82	6,20				0	149,89	2,3	27—29
0,[illegible]5	2,24	2,08	7,08	2,13	1,85	6,64	0	148,96	2	27—29
0,[illegible]4	1,90	1,83	6,19				0	142,09	1	26—28
0,[illegible]5	1,83	1,76	5,97				0	141,92	1	26—28
0,[illegible]4	1,90	1,83	6,18				0	141,71	1	26—28
0,[illegible]2	2,08	2,01	6,81				0	141,57	2	26—28
0,[illegible]3	1,98	1,91	6,46	1,94	1,87	6,33	0	141,20	2	26—28

[illegible]e, Weibchen.

[illegible]	CO_2	O_2	Kalorienbildung pro Kilo und Stunde	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung	Gewicht der Ratte	Dauer des Versuchs	Temperatur des Kastens
0,[illegible]7	2,70	2,51	8,54					115,4	3	28
0,[illegible]0	2,70	2,62	8,85					118,60	3	28
0,[illegible]8	2,57	2,60	8,75					114,0	3	28
0,[illegible]1	2,70	2,48	8,45	2,67	2,55	8,65		113,10	2	28
0,[illegible]7	2,95	2,69	9,20				7,5	115,02	1	28
0,[illegible]8	3,32	3,06	10,41				21,6	114,53	1	28
0,[illegible]5	3,42	2,81	9,75				12,4	114,03	1	28

Tabelle II.

Nr.	Datum 1923	Präparat. Beginn des Versuchs	g H_2O-Bildung	g CO_2-Bildung	g O_2-Aufnahme
1068	14. VI.	$^2/_3$ Std. nach Aufn. von 5 g Rindfleisch, 4. Std.	0,37	0,35	0,28
1069	14. VI.	5. „	0,42	0,38	0,29
1070	29. VI.	$^1/_3$ Std. nach Aufn. von 5,5 g Rindfleisch, 1. Std.	0,22	0,39	0,33
1071	29. VI.	2. „	0,24	0,37	0,32
1072	29. VI.	3. „	0,32	0,41	0,32
1073	29. VI.	4. „	0,29	0,46	0,36
1074	29. VI.	5. „	0,18	0,41	0,38
1075	29. VI.	6. „	0,18	0,35	0,32
1076	4. VII.	$^1/_2$ Std. n. Aufn. von 1,0 g vitaminfr. Fl., 1. Std.	0,24	0,36	0,32
1077	4. VII.	2. „	0,29	0,33	0,32
1078	4. VII.	3. „	0,23	0,33	0,31
1079	4. VII.	5. „	0,38	0,54	0,45
1080	6. VII.	1,30 Std. n. Aufn. v. 1,0 g vitaminfr. Fl., 1. Std.	0,24	0,33	0,32
1081	6. VII.	2. „	0,17	0,35	0,30
1082	6. VII.	3. „	0,24	0,83	0,27
1083	6. VII.	4. „	0,20	0,30	0,28
1084	6. VII.	5. „	0,24	0,24	0,23
1085	6. VII.	6. „	0,23	0,25	0,21

Tabelle III.

Nr.	Datum	Präparat	g H_2O	g CO_2	g O_2
1086	14. VI.	Nüchtern, 20 Std.	1,21	0,83	0,78
1087	18. VI.	„ 15 „	0,92	0,96	0,84
1088	18. VI.	$^2/_3$ Std. nach Aufn. von 5 g Rindfleisch, 1. Std.	0,39	0,47	0,41
1089	18. VI.	2. „	0,28	0,42	0,43
1090	18. VI.	3. „	0,30	0,45	0,41
1091	18. VI.	4. „	0,46	0,42	0,39
1092	19. VI.	Nüchtern, 21 Std.	1,16	0,86	0,79
1093	19. VI.	$^1/_2$ Std. nach Aufn. von 5 g Rindfleisch, 1. Std.	0,47	0,40	0,32
1094	19. VI.	2. „	0,43	0,36	0,33
1095	19. VI.	3. „	0,45	0,49	0,43
1096	19. VI.	4. „	0,43	0,37	0,33
1097	21. VI.	Nüchtern, 41 Std.	0,80	0,78	0,73
1098	22. VI.	$^1/_2$ Std. nach Aufn. von 5 g Rindfleisch, 1. Std.	0,28	0,40	0,32
1099	22. VI.	2. „	0,27	0,36	0,22
1100	22. VI.	3. „	0,31	0,49	0,40
1101	22. VI.	4. „	0,38	0,38	0,33
1102	25. VI.	Nüchtern, 41 Std.	0,65	0,90	0,87
1103	25. VI.	1 Std. nach Aufn. v. 1,2 g vitaminfr. Fl., 1. Std.	0,40	0,43	0,39
1104	25. VI.	2. „	0,25	0,30	0,26
1105	25. VI.	3. „	0,52	0,62	0,52
1106	3. VII.	1 Std. nach Aufn. von 1 g vitaminfr. Fl., 1. Std.	0,29	0,42	0,39
1107	3. VII.	2. „	0,29	0,34	0,33
1108	3. VII.	3. „	0,18	0,36	0,34
1109	3. VII.	4. „	0,26	0,36	0,31
1110	3. VII.	5. „	0,33	0,40	0,39
1111	5. VII.	1 Std. nach Aufn. von 1 g vitaminfr. Fl., 1. Std.	0,23	0,36	0,36
1112	5. VII.	2. „	0,24	0,29	0,26
1113	5. VII.	3. „	0,25	0,29	0,27
1114	5. VII.	4. „	0,26	0,41	0,40
1115	5. VII.	5. „	0,29	0,36	0,33

Ratte, Weibchen.

Respirations-quotient	CO_2	O_2	Kalorienbildung pro Kilo und Stunde	CO_2	O_2	Kalorien-bildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorien-bildung	Gewicht der Ratte	Dauer des Ver-suchs	Temperatur des Kastens
	pro Kilo und Stunde			pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden						
	g	g					Proz.	g	Std.	°C
0,[illegible]7	3,04	2,32	8,08				0,0	113,51	1	28
0,[illegible]30	3,36	2,56	8,99	3,22	2,69	9,29	5,0	113,07	1	28
0,8[illegible]9	3,22	2,72	9,40				9,0	121,19	1	26—29
0,8[illegible]9	3,13	2,71	9,31				8,0	120,91	1	26—29
0,[illegible]30	3,48	2,72	9,49				10,1	120,62	1	26—29
0,[illegible]28	3,82	2,99	10,47				22,0	120,21	1	26—28
0,[illegible]34	3,42	3,17	10,78				25,2	119,81	1	26—28
0,[illegible]5	2,92	2,73	9,13	3,33	2,84	9,76	6,3	119,60	1	26—28
0,[illegible]7	2,82	2,50	8,59				0	127,64	1	26—28
0,[illegible]49	2,59	2,51	8,49				0	127,36	1	26—28
0,[illegible]3	2,60	2,44	8,28				0	127,06	1	26—28
0,[illegible]1	2,84	2,32	7,99	2,66	2,43	8,33	0	126,47	1	26—28
0,[illegible]9	2,76	2,68	9,05				5,7	119,50	1,3	28
0,[illegible]8	2,94	2,52	8,67				1,3	119,25	1	28
0,[illegible]8	2,77	2,27	7,87				0	119,03	1	28
0,[illegible]8	2,52	2,36	8,02				0	118,73	1	28
0,[illegible]2	2,03	1,94	6,55				0	118,51	1	28
0,[illegible]5	2,11	1,78	6,14	2,52	2,26	7,72	0	118,26	1	28

Ratte, Weibchen.

Respirations-quotient	CO_2	O_2	Kalorienbildung	CO_2	O_2	Kalorien-bildung	Spez.-dyn. Wirkung	Gewicht	Dauer	Temperatur
0,[illegible]3	2,24	2,10	7,17					123,77	3	28
0,[illegible]0	2,39	2,09	7,01					134,02	3	27—28
0,[illegible]3	3,45	3,01	10,07				45,2	136,31	1	27
0,[illegible]3	2,46	3,17	10,59				52,6	135,86	1	26—29
0,[illegible]7	3,32	3,02	10,32				48,7	135,59	1	27—28
0,[illegible]2	3,10	2,88	9,80	3,08	3,02	10,20	41,2	135,25	1	28
0,[illegible]1	2,29	2,10	7,20					125,25	3	26—28
0,[illegible]8	3,12	2,49	8,70				25,4	128,14	1	28—30
0,[illegible]2	2,82	2,59	8,80				26,7	127,67	1	28
0,[illegible]8	3,85	3,38	11,34				63,4	127,13	1	28
0,[illegible]4	2,92	2,60	8,91	3,18	2,77	9,44	28,4	126,62	1	28
0,[illegible]6	2,05	1,92	6,53					129,72	3	28
0,[illegible]8	3,19	2,55	8,87				27,8	125,44	1	27—28
1,[illegible]8	2,87	1,76	6,44	(?)			0,0	125,08	1	27—28
0,[illegible]	3,93	3,21	11,15				64,9	124,67	1	27—28
0,[illegible]3	3,06	2,66	9,13	3,26	2,55	8,90		124,27	1	27—29
0,[illegible]1	2,36	2,26	7,63					127,08	3	27—28
0,[illegible]	2,28	2,07	7,05				1,6	125,74	1,3	27—28
0,[illegible]3	2,39	2,07	7,13				2,8	125,30	1	27—28
0,[illegible]3	3,31	2,77	9,59	2,66	2,30	7,92	38,6	125,01	1,3	27—28
0,[illegible]2	2,82	2,62	8,92				28,5	148,50	1	27—28
0,[illegible]3	2,29	2,22	7,53				8,5	148,18	1	27—28
0,[illegible]	2,43	2,30	7,80				10,2	147,88	1	27—28
0,[illegible]3	2,44	2,09	7,22				4,0	147,69	1	27—28
0,[illegible]5	2,71	2,64	8,95	2,54	2,35	8,08	14,5	147,38	1	27—28
0,[illegible]5	2,63	2,63	8,87				11,1	136,66	1	26—28
0,[illegible]	2,12	1,91	6,49				0,0	136,43	1	26—28
0,[illegible]	2,13	1,98	6,74				0,0	136,16	1	26—28
0,[illegible]	3,01	2,94	9,82				41,5	135,87	1	26—28
0,[illegible]	2,65	2,43	8,29	2,51	2,51	8,06	12,4	135,62	1	26—28

Tabelle IV.

Nr.	Datum 1924	Präparat. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Aufnahme g
1116	1. VI.	Nüchtern	1,09	1,24	1,12
1117	5. VI.	"	1,85	0,98	0,97
1118	5. VI.	1/2 Std. nach Aufnahme von 2 g Rindfleisch	0,62	0,94	0,88
1119	7. VI.	Nüchtern	0,83	0,78	0,75
1120	7. VI.	1 Std. nach Aufnahme von 5 g Rindfleisch	1,01	0,99	0,96
1121	11. VI.	Nüchtern	0,79	0,82	0,80
1122	11. VI.	1 Std. nach Aufnahme von 3,5 g Rindfleisch	1,01	0,99	0,97
1123	13. VI.	Nüchtern	0,85	0,85	0,84
1124	14. V.	"	0,43	0,80	0,70
1125	15. V.	1 Std. nach Aufnahme von 5,5 g Pferdefleisch	0,62	1,41	1,26
1126	9. V.	Nüchtern	1,34	1,43	1,34
1127	17. V.	"	1,78	2,02	1,80
1128	17. V.	1 Std. nach Aufnahme von 5,5 g Pferdefleisch	1,03	1,87	1,64
1129	24. V.	3/4 Std. nach Aufnahme von 5,5 g Pferdefleisch	1,05	1,25	1,12
1130	25. V.	Nüchtern	1,20	1,22	1,14
1131	15. VI.	1/2 Std. nach Aufn. von 5 g Pferdefleisch, 1. Std.	0,42	0,36	0,34
1132	15. VI.	2. "	0,40	0,35	0,32
1133	15. VI.	3. "	0,32	0,37	0,36
1134	15. VI.	4. "	0,32	0,33	0,32
1135	15. VI.	5. "	0,35	0,37	0,37
1136	20. VI.	Nüchtern 16 Std.	0,99	0,81	0,74
1137	26. VI.	" 41 "	0,64	0,77	0,74
1138	28. VI.	1/2 Std. n. Aufn. von 1,5 g vitaminfr. Fl., 1. Std.	0,25	0,34	0,33
	28. VI.	2. "	0,19	0,33	0,30
	28. VI.	3. "	0,27	0,36	0,32
	28. VI.	4. "	0,24	0,38	0,35
	28. VI.	5. "	0,33	0,38	0,36
	28. VI	6. "	0,19	0,36	0,33
1138a	9. VII.	1/2 Std. n. Aufn. von 1 g vitaminfr. Fl., 1. "	0,24	0,31	0,31
	9. VII.	2. "	0,20	0,36	0,35
	9. VII.	3. "	0,21	0,44	0,44
	9. VII.	4. "	0,25	0,40	0,40
	9. VII.	5. "	0,24	0,39	0,39
	9. VII.	6. "	0,23	0,39	0,39
1139	11. VII.	1/2 Std. n. Aufn. von 1,2 g vitaminfr. Fl., 1. "	0,20	0,35	0,33
	11. VII.	2. "	0,24	0,33	0,33
	11. VII.	3. "	0,24	0,36	0,35
	11. VII.	4. "	0,20	0,33	0,31
	11. VII.	5. "	0,23	0,34	0,33
	11. VII.	6. "	0,22	0,35	0,33
1139a	12. VII.	1/2 Std. n. Aufn. von 1,2 g vitaminfr. Fl., 1. "	0,20	0,35	0,33
	12. VII.	2. "	0,21	0,33	0,32
	12. VII.	3. "	0,25	0,32	0,29
	12. VII.	4. "	0,22	0,36	0,35
	12. VII.	5. "	0,20	0,33	0,29
	12. VII.	6. "	0,18	0,39	0,36
1140	13. VII.	1/2 Std. n. Aufn. von 1,0 g vitaminfr. Fl., 1. "	0,43	0,93	0,88
	13. VII.	4.—6. "	0,51	0,75	0,67
1140a	16. VII.	2/3 Std. n. Aufn. von 1,0 g vitaminfr. Fl., 1. "	0,17	0,38	0,37
	16. VII.	2. "	0,22	0,32	0,32
	16. VII.	3. "	0,20	0,28	0,28
	16. VII.	4.—5. "	0,42	0,66	0,62
	16. VII.	6.—7. "	0,45	0,64	0,54

… e, Männchen.

CO_2 pro Kilo und Stunde g	O_2 pro Kilo und Stunde g	Kalorienbildung pro Kilo und Stunde	CO_2 pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	O_2 pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	Kalorienbildung pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung Proz.	Gewicht der Ratte g	Dauer des Versuchs Std.	Temperatur des Kastens °C
2,07	1,83	6,24	1,99	1,86			122,67	5	28
1,83	1,83	6,17		6,18			132,26	4	28
2,33	2,18	7,42	2,33	2,18	7,42	20,1	134,34	3	28
1,95	1,87	6,34					133,60	4	28
2,47	2,40	8,12	2,47	2,40	8,12	31,4	136,33	3	28
1,91	1,87	6,25					142,98	3	28
2,27	2,23	7,51	2,27	2,23	7,51	21,4	145,67	3	28
2,03	2,00	6,73					139,58	3	28
2,09	1,83	6,12					127,37	3	27—28
3,10	2,77	9,50	3,10	2,77	9,50	53,7	113,38	4	28
2,15	2,01	6,84					115,70	5 3/4	28—29
2,12	1,89	5,14					118,99	8	28—29
3,03	2,65	8,90	3,03	2,65	8,90	44,0	111,85	5 1/2	28
2,39	2,14	7,33	2,39	2,14	7,33	18,6	113,50	3,50	28
2,06	1,93	6,57					109,73	5 1/2	28
2,45	2,32	7,86				27,2	146,71	1	28
2,40	2,19	7,49				21,2	146,27	1	27—29
2,54	2,47	8,34				34,9	145,84	1	27—29
2,27	2,19	7,43				20,2	145,51	1	28
2,55	2,55	8,58	2,45	2,35	7,94	38,8	145,08	1	27—28
1,94	1,74	5,93					141,98	3	26—28
1,74	1,68	5,69			5,81		146,86	3	27—28
2,31	2,24	7,85				27,0	147,14	1	25—28
2,25	2,04	6,97				12,7	146,88	1	26—28
2,46	2,18	7,47				20,9	146,64	1	26—28
2,60	2,39	8,14				31,7	146,35	1	27—28
2,53	2,46	8,33				35,0	146,08	1	26—28
2,47	2,27	7,71	2,44	2,26	7,75	24,7	145,73	1	26—28
1,89	1,89	6,36				2,9	163,91	1	27—28
2,20	2,14	7,22				16,8	163,67	1	27—28
2,69	2,69	9,06				46,6	163,46	1	27—28
2,45	2,45	8,25				33,5	163,25	1	27—28
2,39	2,39	8,06				30,4	163,00	1	27—28
2,40	2,40	8,07	2,34	2,33	7,84	30,4	162,76	1	27—28
2,12	2,00	6,77				9,5	165,34	1	27—28
2,00	2,00	6,73				8,9	165,12	1	27—28
2,23	2,12	7,18				16,2	164,88	1	27—28
2,00	1,88	6,39				1,8	164,63	1	27—28
2,07	2,01	6,78				9,7	164,41	1	27—28
2,13	2,01	6,82	2,09	2,00	6,78	10,4	164,17	1	27—28
2,10	1,98	6,72				8,17	166,44	1	26—27
1,98	1,93	6,51				5,1	166,22	1	26—27
1,93	1,75	5,96				0,0	165,99	1	26—27
2,17	2,11	7,14				15,5	165,71	1	26—27
1,99	1,75	5,88				0,0	165,48	1	26—27
2,36	2,18	7,42	2,09	1,95	6,61	20,0	165,22	1	26—27
2,27	2,15	7,31				18,3	163,62	2,30	27—29
2,29	2,05	7,01	2,28	2,10	7,16	13,4	163,14	2	27—29
2,51	2,38	8,07				30,4	154,93	1	26—28
2,06	2,06	6,96				12,6	154,75	1	26—28
1,81	1,81	6,10				0,0	154,53	1	26—28
2,13	2,01	6,82				10,4	154,33	2	26—28
2,08	1,76	6,05	2,32	2,01	6,80	0,0	153,87	2	26—28

Tabelle V.

Nr.	Datum 1923	Präparat. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Aufnahme g
1141	18. X.	Nüchtern	0,55	0,86	0,82
1142	18. X.	„	0,66	0,78	0,75
1143	20. X.	„	0,57	0,77	0,73
1144	23. X.	„	0,73	0,83	0,80
1145	23. X.	„	0,82	0,83	0,78
1146	25. X.	„	0,97	0,80	0,77
1147	25. X.	„	0,60	0,81	0,81
1148	27. X.	„	0,67	0,83	0,81
1149	30. X.	$^1/_2$ 1,0 g vitaminfr. Fleisch	0,65	1,13	1,08
1150	1. XI.	$^2/_3$ 1,0 g „ „	0,68	1,18	1,07
1151	3. XI.	$^1/_2$ 1,6 g „ „	0,67	1,24	1,16
1152	6. XI.	$^1/_2$ 6,0 g Rindfleisch . . .	0,88	1,40	1,33
1153	8. XI.	$^1/_2$ Std. n. Aufn. von 6,0 g „ . . .	0,55	1,47	1,38
1154	10. XI.	$^1/_2$ 6,0 g „ . . .	0,47	1,44	1,33
1155	13. XI.	$1^1/_2$ 2,7 g gekochtes Fleisch	0,49	1,51	1,45
1156	20. XI.	1 3,2 g „ „	0,58	1,58	1,58
1157	22. XI.	$1^1/_2$ 5,0 g „ „	0,95	1,58	1,58
1158	27. XI.	$1^1/_2$ 5,0 g „ „	0,56	1,58	1,54
	28. XI.	0,3 g Phosphat + 0,032 g + 2,0 g Rohrzucker			
	29. XI.	0,3 g Thyroid Gland + 2,0 g „			
	30. XI.	0,3 g + 3,0 g „			
1159	1. XII.	Nüchtern	0,44	1,29	1,28
	1. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g + 3,0 g Rohrzucker			
	2. XII.	0,3 g Thyroid Gland + 3,0 g „			
	3. XII.	0,3 g + 3,0 g „			
1160	4. XII.	Nüchtern	0,86	1,64	1,62
	4. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g + 3,0 g Rohrzucker			
	5. XII.	0,3 g Thyroid Gland + 3,0 g Rohrzucker			
1161	6. XII.	Nüchtern	0,38	1,12	1,06
1162	6. XII.	1 Std. nach Aufnahme von 6,0 g Rindfleisch . .	0,48	1,96	1,78
	7. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 3,0 g Rohrzucker			
1163	8. XII.	Nüchtern	0,42	2,08	0,99
	8. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 2,0 g Rohrzucker			
	9. XII.	0,15 g „ + 0,016 g „ „ + 1,0 g „			
1164	10. XII.	Nüchtern	0,74	1,02	0,96
1165	10. XII.	$^1/_2$ Std. nach Aufnahme von 6,0 g Rindfleisch .	0,50	1,88	1,67
	11. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 2,0 g Rohrzucker			
1166	12. XII.	Nüchtern	0,40	1,06	1,03
1167	12. XII.	1 Std. nach Aufnahme von 6,0 g Rindfleisch .	1,22	2,05	1,85
1168	14. XII.	Nüchtern	0,30	0,88	0,82
1169	14. XII.	$^2/_3$ Std. nach Aufnahme von 3,0 g gek. Fleisch .	0,88	1,52	1,39
1170	17. XII.	Nüchtern	0,69	0,84	0,84
1171	17. XII.	$^2/_3$ Std. nach Aufnahme von 3,0 g gek. Fleisch .	0,71	1,32	1,28
1172	19. XII.	Nüchtern	0,74	0,89	0,89
1173	19. XII.	1 Std. nach Aufnahme von 3,0 g gek. Fleisch .	0,69	1,36	1,30
1174	21. XII.	Nüchtern	0,41	0,91	0,92
1175	21. XII.	$^2/_3$ Std. nach Aufnahme von 3,0 g gek. Fleisch .	0,99	1,49	1,39
1176	24. XII.	Nüchtern	0,22	0,95	0,91
1177	24. XII.	$^2/_3$ Std. nach Aufn. von 2,0 g vitaminfr. Fleisch	0,87	1,53	1,48

Ratte.

…quotient	CO_2	O_2	Kalorienbildung pro Kilo und Stunde	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung	Gewicht der Ratte	Dauer des Versuchs	Temperatur des Kastens
	pro Kilo und Stunde			pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden						
	g	g					Proz.	g	Std.	°C
32	1,96	1,87	6,34					146,03	3	27—28
55	1,79	1,73	5,85					145,44	3	27—28
36	1,78	1,67	5,70					144,60	3	27—28
54	1,84	1,77	6,00					150,32	3	27—28
54	1,81	1,74	5,89					149,25	3	27—28
55	1,78	1,72	5,81					149,57	3	27—28
26	1,82	1,82	6,13					148,40	3	27—28
45	1,89	1,85	6,25	1,83	1,77	6,00		145,96	3	27—28
40	1,90	1,84	6,30					144,43	4	27—28
1	1,98	1,79	6,11					149,44	4	27—28
59	1,99	1,87	6,31	1,96	1,84	6,24	4	155,56	4	27—28
59	2,09	2,00	6,76					166,63	4	27—28
4	2,19	2,05	6,96					168,09	4	27—28
57	2,10	1,94	6,61	2,13	2,00	6,78	13,0	171,15	4	27—28
6	2,13	2,04	6,91					177,58	4	27—28
6	2,00	2,00	6,74					196,64	4	27—28
6	2,03	2,03	6,83					194,70	4	27—28
5	1,96	1,91	6,47	2,03	2,00	6,74	12,4	201,10	4	27—28
2	2,21	2,19	7,37					194,81	3	27—28
5	3,01	2,98	10,06					181,13	3	27—28
7	2,15	2,04	6,90					173,63	3	27—28
0	2,74	2,49	8,29				20,0	175,39	4	27—28
5	2,20	2,04	6,93					162,18	3	27—28
0 2	2,17	2,04	6,92					156,92	3	27—28
0 7	2,89	2,59	8,87				28,2	160,94	4	27—28
0 8	2,27	2,20	7,44					155,88	3	27—28
0 5	3,20	2,99	9,90				29,0	160,11	4	27—28
0 0	1,84	1,74	5,93					156,78	3	27—28
5	2,40	2,20	7,50				24,9	158,15	4	27—28
6	1,66	1,66	5,60					168,31	3	27—28
9	1,95	1,89	6,39				12,3	169,23	4	27—28
3	1,68	1,68	5,66					146,48	3	27—28
0	1,92	1,83	6,21				9,7	177,33	4	27—28
0 9	1,70	1,72	5,77					178,68	3	27—28
0 9	2,07	1,93	6,56				13,7	180,18	4	27—28
0 3	1,72	1,65	5,57					184,00	3	27—28
0 1	2,05	1,98	6,69				20,3	186,87	4	27—28

Tabelle V.

Nr.	Datum 1924	Präparat. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Aufnahme g
1178	4. I.	Nüchtern	0,48	1,21	1,21
1179	4. I.	2/3 Std. nach Aufn. von 1,0 g vitaminfr. Fleisch	0,47	1,62	1,61
1180	8. I.	Nüchtern	0,75	1,20	1,19
1181	8. I.	2/3 Std. nach Aufn. von 1,2 g vitaminfr. Fleisch	0,97	1,66	1,65
1182	11. I.	Nüchtern	0,60	1,20	1,16
1183	11. I.	2/3 Std. nach Aufn. von 1,2 g vitaminfr. Fleisch	0,55	1,61	1,58

Tabelle VI.

Nr.	Datum 1923	Präparat. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Aufnahme g
1184	18. X.	Nüchtern	0,72	0,80	0,77
1185	18. X.	„	0,62	0,83	0,82
1186	20. X.	„	0,68	0,81	0,72
1187	23. X.	„	0,72	0,84	0,77
1188	23. X.	„	0,63	0,75	0,72
1189	25. X.	„	1,04	0,84	0,82
1190	25. X.	„	0,55	0,77	0,77
1191	30. X.	1/2 Std. n. Aufn. von 1,0 g vitaminfr. Fleisch	0,80	1,21	1,12
1192	1. XI.	2/3 Std. n. Aufn. von 1,0 g „ „	0,81	1,25	1,14
1192	3. XI.	1/2 Std. n. Aufn. von 1,3 g „ „	0,66	1,31	1,19
1193	6. XI.	1/2 Std. n. Aufn. von 6,0 g Rindfleisch . . .	1,01	1,37	1,25
1194	8. XI.	1/2 Std. n. Aufn. von 6,0 g „ . . .	0,69	1,42	1,32
1195	10. XI.	1/2 Std. n. Aufn. von 6,0 g „ . . .	0,87	1,30	1,22
1196	13. XI.	1 Std. n. Aufn. von 3,6 g gekochtes Fleisch	1,04	1,51	1,45
1197	20. XI.	1 Std. n. Aufn. von 6,0 g „ „	0,71	1,52	1,52
1198	22. XI.	1 1/2 Std. n. Aufn. von 5,0 g „ „	0,48	1,41	1,39
1199	27. XI.	1 1/2 Std. n. Aufn. von 4,5 g „ „	0,62	1,37	1,31
	28. XI.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 2,0 g Rohrzucker			
	29. XI.	0,8 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 2,0 g „			
	30. XI.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 3,0 g „			
1200	1. XII.	Nüchtern	0,51	1,15	1,10
	1. XII.	0,3 g Phosphat + 0,038 g Thyroid Gland + 3,0 g Rohrzucker			
	2. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 3,0 g Rohrzucker			
	3. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 3,0 g „			
1201	4. XII.	Nüchtern	0,44	1,21	1,18
	4. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 3,0 g Rohrzucker			
	5. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 3,0 g „			
1202	6. XII.	Nüchtern	0,46	1,20	1,18
1203	6. XII.	1 Std. nach Aufnahme von 6,0 g Rindfleisch .	0,88	2,01	1,93
	6. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 3,0 g Rohrzucker			
	7. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 3,0 g „			
1204	8. XII.	Nüchtern	0,57	1,03	1,00
	8. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 1,0 g Zucker . .			
	9. XII.	0,15 g „ + 0,016 g „ „ + 1,0 g „ . .			
1205	10. XII.	Nüchtern	0,60	1,15	1,11
1206	10. XII.	1 Std. nach Aufnahme von 6,0 g Rindfleisch .			
	11. XII.	0,3 g Phosphat + 0,032 g Thyroid Gland + 2,0 g Rohrzucker			
1207	12. XII.	Nüchtern	0,42	1,06	1,02
1208	12. XII.	1 Std. nach Aufnahme von 6,0 g gek. Fleisch .	0,92	2,01	1,80
1209	14. XII.	Nüchtern	0,54	0,90	0,86

Ratte.

	CO_2 pro Kilo und Stunde g	O_2 pro Kilo und Stunde g	Kalorienbildung pro Kilo und Stunde	CO_2 pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	O_2 pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	Kalorienbildung pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung Proz.	Gewicht der Ratte g	Dauer des Versuchs Std.	Temperatur des Kastens °C
[illegible]	1,82	1,82	6,13					221,60	3	27—28
[illegible]	1,81	1,80	6,07					223,16	4	27—28
[illegible]	1,76	1,74	5,87					227,61	3	27—28
[illegible]	1,82	1,81	6,09				3,7	228,02	4	27—28
[illegible]	1,75	1,69	5,73					228,21	3	27—28
[illegible]	1,75	1,68	5,66					230,08	4	27—28

R[illegible]e.

	CO_2 g	O_2 g	Kalorienbildung	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spez.-dyn. Wirkung Proz.	Gewicht g	Dauer Std.	Temperatur °C
[illegible]	2,02	1,94	6,55					132,22	3	27—28
[illegible]	2,10	2,08	7,01					131,49	3	27—28
[illegible]	2,09	1,86	6,39					128,67	3	27—28
[illegible]	2,18	1,96	6,68					130,74	3	27—28
[illegible]	1,97	1,89	6,40					129,93	3	27—28
[illegible]	2,17	2,12	7,14					128,80	3	27—28
[illegible]	2,01	2,01	6,76	2,08	1,98	6,70		127,51	3	27—28
[illegible]	2,34	2,16	7,52					129,15	4	27—28
[illegible]	2,43	2,21	7,55					128,72	4	27—28
[illegible]	2,37	2,16	7,37	2,38	2,17	7,48	11,6	137,69	4	27—28
[illegible]	2,36	2,21	7,50					141,89	4	27—28
[illegible]	2,42	2,35	8,00					140,10	4	27—28
[illegible]	2,32	2,18	7,39	2,37	2,25	7,63	13,9	140,15	4	27—28
[illegible]	2,58	2,48	8,39					146,27	4	27—28
[illegible]	2,37	2,37	8,00					160,05	4	27—28
[illegible]	2,28	2,25	7,60					154,37	4	27—28
[illegible]	2,17	2,08	7,04					157,53	4	27—28
[illegible]	2,53	2,42	8,19					151,63	3	27—28
[illegible]	2,84	2,77	9,39					141,83	3	27—28
[illegible]	2,89	2,84	9,59					138,37	3	27—28
0,75	3,54	3,40	11,50				20,0	141,95	4	27—28
[illegible]	2,62	2,54	6,84					130,85	3	27—28
[illegible]	2,95	2,84	9,61					130,17	3	27—28
[illegible]	3,71	3,47	11,81				22,9	134,62	4	27—28
[illegible]	2,74	2,64	8,96					128,51	3	27—28
[illegible]	3,81	3,40	11,65				30,0	132,02	4	27—28
[illegible]	2,36	2,25	7,65					126,88	3	27—28

Tabelle VI.

Nr.	Datum 1923	Präparat. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Aufnahme g
1210	14. XII.	2/3 Std. nach Aufnahme von 3,0 g gek. Fleisch	0,58	1,50	1,37
1211	17. XII.	Nüchtern	0,50	0,79	0,77
1212	17. XII.	2/3 Std. nach Aufnahme von 3,0 g gek. Fleisch	0,64	1,21	1,17
1213	19. XII.	Nüchtern	0,62	0,79	0,74
1214	19. XII.	1 Std. nach Aufnahme von 3,0 g gek. Fleisch	0,79	1,22	1,16
1215	21. XII.	Nüchtern	0,48	0,75	0,75
1216	21. XII.	2/3 Std. nach Aufnahme von 3,0 g gek. Fleisch	0,89	1,23	1,16
1217	24. XII.	Nüchtern	0,47	0,93	0,82
1218	24. XII.	2/3 Std. nach Aufn. von 2,0 g vitaminfr. Fleisch	0,98	1,52	1,36
1219	4. I. 1924	Nüchtern	0,34	1,16	1,14
1220	4. I.	2/3 Std. nach Aufn. von 2,0 g vitaminfr. Fleisch	0,68	1,69	1,64
1221	8. I.	Nüchtern	0,56	1,17	1,17
1222	8. I.	2/3 Std. nach Aufn. von 1,2 g vitaminfr. Fleisch	1,17	1,77	1,70
1223	11. I.	Nüchtern	0,70	1,03	1,01
1224	11. I.	2/3 Std. nach Aufn. von 1,2 g vitaminfr. Fleisch	0,72	1,47	1,41

Tabelle VII.

Nr.	Datum	Präparat. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Aufnahme g
1225	10. VII.	Nüchtern 16 Std.	0,92	0,92	0,92
1226	10. VII.	„ 19 „	0,85	0,96	0,96
1227	11. VII.	„ 17 „	0,65	0,85	0,82
1228	13. VII.	„ 17 „	0,60	0,87	0,83
1229	14. VII.	„ 17 „	0,60	0,71	0,65
1230	17. VII.	„ 17 „	0,56	0,95	0,92
1231 1232	17. VII.	1/2 Std. n. Aufn. v. 1,0 g Eieralbumin 1.—2. Std.	0,55	0,50	0,50
1233	17. VII.	3.—4. „	0,56	0,49	0,49
1234	19. VII.	Nüchtern 17 Std.	0,48	0,89	0,81
1235 1236	19. VII.	1/2 Std. n. Aufn. v. 1,0 g Eieralbumin 1.—2. Std.	0,44	0,54	0,56
1237	19. VII.	3.—4.—5. „	0,74	1,01	0,97
1238 1239	24. VII.	1/2 Std. n. Aufnahme v. 1,0 g Eieralbumin 1. Std.	0,21	0,30	0,32
1240	24. VII.	2. „	0,18	0,34	0,35
1241	24. VII.	3. „	0,19	0,37	0,34
1242	24. VII.	4. „	0,19	0,35	0,32
1243	24. VII.	5. „	0,15	0,31	0,31
1244	24. VII.	6. „	0,21	0,31	0,30
1245	25. VII.	Nüchtern	0,50	0,85	0,82
1246	26. VII.	„	0,58	0,72	0,69
1247	26. VII.	„	0,70	0,72	0,72
1248	27. VII.	1/2 Std. n. Aufnahme v. 1,0 g Eieralbumin 1. Std.	0,25	0,35	0,35
1249	27. VII.	2.—3. „	0,51	0,57	0,57
1250	27. VII.	4. „	0,28	0,33	0,30
1251	27. VII.	5. „	0,24	0,41	0,40
1252	27. VII.	6. „	0,18	0,35	0,33
1253	31. VII.	1/2 Std. n. Aufnahme v. 1,0 g Eieralbumin 1. Std.	0,15	0,26	0,29
1254	31. VII.	2. „	0,23	0,32	0,33
1255	31. VII.	3. „	0,20	0,33	0,35
1256	31. VII.	4. „	0,17	0,28	0,25
1257	31. VII.	5. „	0,28	0,31	0,32
1258	31. VII.	6. „	0,18	0,31	0,33

CO_2 pro Kilo und Stunde g	O_2 pro Kilo und Stunde g	Kalorienbildung pro Kilo und Stunde	CO_2 pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	O_2 pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	Kalorienbildung pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung Proz.	Gewicht der Ratte g	Dauer des Versuchs Std.	Temperatur des Kastens °C
2,93	2,67	9,12				19,2	128,18	4	27—28
1,98	1,94	6,53					132,87	3	27—28
2,25	2,22	7,50				14,9	134,55	4	27—28
1,93	1,81	6,13					136,43	3	27—28
2,21	2,16	7,12				12,9	137,99	4	27—28
1,83	1,83	6,15					136,89	3	27—28
2,25	2,12	7,18				16,7	136,89	4	27—28
2,12	1,87	6,40					145,91	3	27—28
2,55	2,28	7,80				21,9	149,06	4	27—28
2,18	2,14	7,22					177,70	3	27—28
2,36	2,30	7,75				7,6	178,89	4	27—28
2,16	2,16	7,27					180,66	3	27—28
2,42	2,32	7,87				8,3	182,81	4	27—28
1,89	1,85	6,24					181,94	3	27—28
2,01	1,93	6,53				4,6	182,87	4	27—28

CO_2 g	O_2 g	Kalorienbildung	CO_2 Mittel	O_2 Mittel	Kalorienbildung Mittel	Spezifisch-dynamische Wirkung Proz.	Gewicht der Ratte g	Dauer Std.	Temperatur °C
2,39	2,39	8,06					128,08	3	28—27
2,51	2,51	8,46					127,37	3	28—27
2,27	2,20	7,42					124,47	3	28—27
2,34	2,24	7,57					123,74	3	28
1,88	1,73	5,89	2,24	2,17	7,33		125,33	3	27—28
2,64	2,56	8,66					119,73	3	27—28
2,11	2,11	7,09					118,76	2	27—28
2,07	2,07	6,98	2,09	2,09	7,04		118,21	2	27—28
2,48	2,26	7,71					119,36	3	26—29
2,28	2,36	7,92				8,0	118,87	2	26—29
2,84	2,73	9,24	2,56	2,55	8,58	27,1	118,45	3	26—29
2,20	2,35	7,88				7,5	136,06	1	26—28
2,50	2,57	8,63				17,7	135,87	1	27—28
2,73	2,51	8,53				16,2	135,70	1	27—28
2,58	2,36	8,05				9,8	135,48	1	27—28
2,29	2,29	7,72				5,3	135,20	1	27—28
2,24	2,22	7,51	2,42	2,38	8,05	2,4	135,51	1	27—28
2,16	2,08	7,03					131,49	3	27—28
1,87	1,80	6,09					128,01	3	27—28
1,90	1,90	6,41					125,96	3	27—28
2,73	2,73	9,18				25,2	128,31	1	27—28
2,23	2,23	7,51				2,4	128,06	1	27—28
2,59	2,35	8,02				9,4	127,55	1	27—28
3,22	3,14	10,61				44,7	127,24	1	27—28
2,75	2,60	8,82	2,71	2,61	8,83	20,3	126,97	1	27—28
1,99	2,21	7,35				0,4	130,96	1	26—28
2,37	2,52	8,41				14,7	130,84	1	26—28
2,53	2,68	8,95				22,0	130,62	1	26—28
2,15	1,92	6,55				0,0	130,49	1	26—28
2,38	2,45	8,25				11,2	130,24	1	26—28
2,39	2,53	8,47	2,30	2,39	8,00	16,9	129,97	1	26—28

Die Mittelwerte dieser Versuchsreihen ergeben folgende Zahlen:

Tabelle V.

Kalorienbildung pro Kilogramm und Stunde:

a)	Mittelwert der Nüchternversuche		6,0 Cal
b)	„	nach Aufnahme von rohem Fleisch	6,76 „
c)	„	nach Aufnahme von vitaminfreiem Fleisch	6,24 „

Tabelle VI.

a)	Mittelwert der Nüchternversuche		6,70 Cal
b)	„	nach Aufnahme von rohem Fleisch	7,70 „
c)	„	nach Aufnahme von vitaminfreiem Fleisch	7,48 „

Die Frage, ob die reinen Eiweißkörper und die Aminosäuren ebenso spezifisch-dynamisch wirken wie das Fleisch, wurde besonders von *G. Lusk* eingehend bearbeitet. Auf Grund der oben besprochenen Versuche muß bei der Frage der spezifisch-dynamischen Wirkung auch der Gehalt des Nahrungsstoffes an Vitamin berücksichtigt werden. Bei der Reindarstellung der Eiweißkörper und der Aminosäuren wird ein großer Teil der in ihnen enthaltenen Vitamine zerstört und beseitigt. Es müßten also noch Versuche mit den einzelnen Eiweißkörpern bzw. Aminosäuren unter Zusatz von Vitamin durchgeführt werden. Wir haben einige Versuche mit kristallisiertem Eieralbumin Merck angestellt. Die Einzelheiten der Versuche sind in Tabelle VII enthalten. An einzelnen Stunden nach der Eieralbumineingabe findet man bedeutende Stoffwechselerhöhungen. Berücksichtigt man aber die Mittelwerte sämtlicher Versuche, so findet man folgendes:

	g CO_2	g O_2	Kalorien
	pro kg und Stunde		
Mittelwert der Nüchternversuche	2,24	2,17	7,33
„ „ Eieralbuminversuche	2,45	2,41	8,13

Die durchschnittliche spezifisch-dynamische Eieralbuminwirkung beträgt somit 11 Proz. — eine Zahl, welche unterhalb der durchschnittlichen Fleischwirkung liegt.

Wir haben noch eine Anzahl von Versuchen mit Gelatine durchgeführt. Die Ergebnisse waren leider nicht einheitlich, indem in manchen Fällen nach Eingabe von 1,0 g Gelatine keine spezifisch-dynamische Wirkung zu beobachten war. In anderen Versuchen, nach Zufuhr von 0,5 g Gelatine, ging der Gaswechsel in die Höhe. Aus äußeren Gründen konnten die Versuche in dieser Richtung nicht weiter fortgesetzt werden.

Wir möchten anschließend noch zwei Versuchsreihen von *R. Neuburger* (Dissertation Bern, 1924) anführen, die zuerst ausgeführt wurden und einen orientierenden Charakter hatten. Es wurde in diesen Versuchen die spezifisch-dynamische Wirkung des rohen, des mit Wasser allein und des mit Wasser, Alkohol und Äther extrahierten Fleisches miteinander verglichen. Es zeigte sich auch bei diesen Tieren, daß die Unterschiede in der spezifisch-dynamischen Wirkung der einzelnen Fleischarten nach der Schilddrüsenzufuhr viel deutlicher zum Ausdruck kommen.

Versuch vom 7. bis 29. März 1928.

Zuerst wurde in einer Reihe von Versuchen der Ruheumsatz bestimmt. Am 12. März begannen die Fleischfütterungsversuche. Es wurde dabei zuerst in einem dreistündigen Versuch der Ruheumsatz ermittelt. Darauf erhielt das Tier ein entsprechendes Quantum Fleisch. Kurze Zeit nach der Fleischaufnahme begann der neue Gaswechselversuch zur Feststellung der spezifisch-dynamischen Wirkung des Fleisches.

Am 12. und 13. März wurde mit Wasser extrahiertes Fleisch, am 14. und 15. März mit Wasser und Alkohol vorbehandeltes Fleisch und am 16. und 17. März rohes Fleisch verfüttert. Die Zahlen der spezifisch-dynamischen Wirkung schwanken bei den einzelnen Versuchen, lassen aber doch erkennen, daß die spezifisch-dynamische Wirkung am stärksten bei rohem Fleisch, schwächer beim mit Wasser extrahierten und noch geringer beim mit Wasser und Alkohol vorbehandelten Fleisch ist.

Am 17. März beginnt die Verfütterung von Thyreoidea, das Tier erhielt insgesamt 0,59 g getrockneter Schilddrüse in Mengen von 0,03, 0,05 bis 0,1 g pro Tag. Die Ermittlung der spezifisch-dynamischen Wirkung ergibt auch hier, daß rohes Fleisch den Stoffwechsel viel stärker anregt, als mit Wasser und Alkohol extrahiertes Fleisch.

So betrug am 24. März nach Aufnahme von 1,3 g von mit Wasser und Alkohol extrahiertem Fleisch (= 6,5 bis 7,0 g rohen Fleisches) die spezifisch-dynamische Wirkung 7,5 Proz.

Und am 28. März nach Aufnahme von 1,2 g dieses Fleisches (= 6,0 bis 6,5 g rohen Fleisches) war die spezifisch-dynamische Wirkung = 8,9 Proz.

Demgegenüber finden wir am 26. März nach Verfütterung von 7 g rohen Fleisches eine Stoffwechselerhöhung von 22,2 Proz. und am 29. März ebenfalls nach 7 g rohen Fleisches eine spezifisch-dynamische Wirkung von 22,0 Proz., d. h. die spezifisch-dynamische Wirkung von rohem Fleisch ist ungefähr 2,5- bis 3mal stärker als die spezifisch-dynamische Wirkung gleicher Quantitäten von mit Alkohol und Wasser vorbehandeltem Fleisch.

Die spezifisch-dynamische Wirkung von nur mit Wasser extrahiertem Fleisch ist zwar etwas schwächer, aber doch annähernd ähnlich derjenigen des rohen Fleisches.

Versuch vom 8. bis 27. März 1928.

Die Anordnung des Versuchs ist die gleiche wie in der zuletzt besprochenen Versuchsreihe. Bestimmung des Ruheumsatzes und dann Feststellung der spezifisch-dynamischen Wirkung von a) mit Wasser, b) mit Wasser und Alkohol behandeltem, c) mit rohem Fleisch. Die Schilddrüsenfütterung begann am 17. März; auch dieses Tier erhielt insgesamt 0,59 g getrockneter Thyreoidea von *Burroughs Wellcome*. Sowohl vor wie nach der Schilddrüsendarreichung ist die spezifisch-dynamische Wirkung des rohen Fleisches größer als diejenige des extrahierten Fleisches.

Tabelle VIII. **Weiße Ratte.**

Nr.	Datum 1923	Präparat. Beginn des Versuchs	g H_2O-Bildung	g CO_2-Bildung	g O_2-Aufnahme	Respirationsquotient	CO_2 pro Kilo u. Stunde g	O_2 pro Kilo u. Stunde g	Kalorienbildung pro Kilo u. Std.	Spezifisch-dynamische Wirkung CO_2 Proz.	Spezifisch-dynamische Wirkung O_2 Proz.	Spezifisch-dynamische Wirkung Kalorien Proz.	Gewicht der Ratte g	Dauer des Versuches Std.	Temperatur des Kastens °C
1	7. III.	Nüchtern	1,85	1,73	1,68	0,71	2,95	2,87	9,85				117,02	5	28
2	8. III.	"	1,34	1,73	1,71	0,72	2,26	2,23	7,49				109,25	7	28
3	9. III.	"	1,05	1,62	1,51	0,78	2,42	2,22	7,56				111,49	6	28
4	10. III.	"	0,58	0,75	0,71	0,77	2,29	2,17	7,37				109,08	3	28
5	12. III.	"	0,48	0,79	0,75	0,765	2,35	2,26	7,67				110,47	3	28
6	12. III.	Fleisch, extrah. mit H_2O, 1,2 g (nach 1 Std.)	0,44	0,89	0,84	0,77	2,64	2,49	8,47	+ 12,3	+ 10,2	+ 10,4	112,11	3	28
7	13. III.	Nüchtern	0,76	0,86	0,86	0,72	2,56	2,56	8,60				111,82	3	28
8	13. III.	Fleisch, extrah. mit H_2O, 1,3 g (nach 1 Std.)	0,59	1,00	0,94	0,77	2,95	2,77	9,40	+ 15,2	+ 8,2	+ 9,3	112,65	3	28
9	14. III.	Nüchtern	0,47	0,88	0,85	0,75	2,63	2,54	8,59				111,5	3	28
10	14. III.	Fleisch, m. H_2O + Alkohol extrahiert, 1,4 g (nach 1¼ Std.)	0,76	0,99	0,93	0,77	2,94	2,76	9,37	+ 11,8	+ 8,6	+ 9,2	112,2	3	28
11	15. III.	Nüchtern	0,97	1,33	1,31	0,73	2,67	2,63	8,86				110,47	4½	28
12	15. III.	Fleisch, m. H_2O + Alkohol extrahiert, 1,0 g (nach 1¼ Std.)	0,54	0,96	0,9	0,77	2,88	2,71	9,20	+ 8,0	+ 3,0	+ 3,8	111,04	3	28
13	16. III.	Nüchtern	0,38	0,9	0,88	0,74	2,61	2,53	8,54				114,59	3	28
14	16. III.	Fleisch. 7 g (nach 1 Std.)	0,65	1,11	0,99	0,81	3,14	2,79	9,54	+ 20,3	+ 10,7	+ 11,7	117,88	3	28
15	17. III.	Nüchtern	0,48	0,88	0,81	0,79	2,50	2,30	7,83				117,14	3	28
16	17. III.	Fleisch, 7 g (nach 1 Std.)	0,78	1,10	0,99	0,81	3,06	2,75	9,40	+ 22,4	+ 19,6	+ 20,0	119,72	3	28
17	23. III.	Nüchtern	0,62	1,01	0,96	0,76	3,05	2,90	9,82				110,27	3	28
18	23. III.	Fleisch, extrah. m. H_2O, 1,2 g (nach 45 Min.)	0,57	1,20	1,06	0,82	3,63	3,20	10,95	+ 19,0	+ 10,4	+ 11,5	111,01	3	28
19	24. III.	Nüchtern	0,51	1,05	1,02	0,75	3,22	3,13	10,58				108,69	3	28
20	24. III.	Fleisch, m. H_2O + Alkohol extrahiert, 1,3 g (nach 1¼ Std.)	0,58	1,19	1,09	0,79	3,63	3,33	11,34	+ 12,7	+ 6,4	+ 7,1	109,21	3	28
21	26. III.	Nüchtern	0,88	1,09	1,05	0,75	3,3	3,18	10,75				110,06	3	28
22	26. III.	Fleisch, 7 g (nach 1¼ Std.)	0,75	1,46	1,32	0,8	4,26	3,85	13,14	+ 29	+ 20	+ 22,2	114,3	3	28
23	27. III.	Nüchtern	0,73	1,10	1,04	0,77	3,41	3,22	10,93				107,65	3	28
24	27. III.	Fleisch, extrah. mit H_2O, 1,3 g (nach 1 Std.)	0,68	1,38	1,26	0,8	4,25	3,89	13,28	+ 24,6	+ 20,8	+ 21,5	108,17	3	28
25	28. III.	Nüchtern	0,46	1,16	1,12	0,75	3,64	3,52	11,90				106,12	3	28
26	28. III.	Fleisch, m. H_2O + Alkohol extrahiert, 1,2 g (nach 1 Std.)	0,56	1,32	1,22	0,786	4,12	3,81	12,96	+ 13,2	+ 8,2	+ 8,9	106,89	3	28
27	29. III.	Nüchtern	0,44	1,20	1,13	0,77	3,81	3,58	12,15				105,02	3	28
28	29. III.	Fleisch, 7 g (nach 1 Std.)	0,5	1,58	1,42	0,8	4,80	4,34	14,81	+ 26	+ 21,2	+ 22,0	109,01	3	28

Tabelle IX. Weiße Ratte.

Nr.	Datum 1923	Präparat	g H_2O-Bildung	g CO_2-Bildung	g O_2-Aufnahme	Respirationsquotient	CO_2 pro Kilo u. Stunde g	O_2 pro Kilo u. Stunde g	Kalorienbildung pro Kilo u. Std.	CO_2 Spezifisch-dynamische Wirkung Proz.	O_2 Spezifisch-dynamische Wirkung Proz.	Kalorien Spezifisch-dynamische Wirkung Proz.	Gewicht der Ratte g	Dauer des Versuchs Std.	Temperatur des Kastens °C
1	8. III.	Nüchtern	1,09	1,58	1,58	0,72	2,47	2,47	8,30				106,40	6	28
2	9. III.	"	0,64	0,80	0,77	0,75	2,46	2,37	8,01				108,32	3	28
3	10. III.	"	1,4	1,96	1,96	0,72	2,47	2,47	8,30				113,23	7	28
4	12. III.	"	0,59	0,85	0,85	0,72	2,57	2,57	8,64				110,48	3	28
5	12. III.	Fleisch, m. H_2O extrah., 1,2 g (nach 1¼ Std.)	0,5	0,95	0,90	0,77	2,85	2,69	9,13	+ 10,9	+ 4,7	+ 5,6	111,48	3	28
6	13. III.	Nüchtern	0,34	0,83	0,79	0,75	2,46	2,34	7,91				113,39	3	28
7	13. III.	Fleisch, m. H_2O extrah., 1,4 g (nach 1¼ Std.)	0,40	1,00	0,90	0,81	2,91	2,62	8,96	+ 18,3	+ 11,9	+ 13,3	114,50	3	28
8	14. III.	Nüchtern	0,63	0,91	0,85	0,77	2,60	2,43	8,25				116,56	3	28
9	14. III.	Fleisch, mit H_2O + Alkohol extrahiert, 0,6 g (nach 1 Std.)	0,78	0,98	0,87	0,82	2,80	2,48	8,49	+ 7,7	+ 2,0	+ 2,9	116,75	3	28
10	15. III.	Nüchtern	0,37	0,81	0,78	0,75	2,38	2,29	7,74				114,30	3	28
11	15. III.	Fleisch, mit H_2O + Alkohol extrahiert, 1,6 g (nach 1 Std.)	0,48	0,95	0,86	0,80	2,75	2,50	8,53	+ 15,6	+ 9,1	+ 10,2	115,15	3	28
12	16. III.	Nüchtern	0,57	0,81	0,76	0,77	2,33	2,20	7,47				115,62	3	28
13	16. III.	Fleisch, 7 g (nach 1 Std.)	0,80	1,03	0,91	0,82	2,90	2,58	8,83	+ 24,4	+ 17,2	+ 18,2	117,87	3	28
14	17. III.	Nüchtern	0,60	0,88	0,81	0,79	2,50	2,28	7,77				118,02	3	28
15	17. III.	Fleisch, 7 g (nach 1 Std.)	0,43	1,08	0,94	0,82	2,97	2,60	8,90	+ 18,8	+ 14,3	+ 14,5	120,85	3	28
16	23. III.	Nüchtern	0,56	0,98	0,94	0,76	2,85	2,73	9,25				114,72	3	28
17	23. III.	Fleisch, m. H_2O extrah., 1,6 g (nach 45 Min.)	0,47	1,20	1,08	0,81	3,48	3,13	10,70	+ 22,1	+ 14,6	+ 15,6	115,04	3	28
18	24. III.	Nüchtern	0,36	1,05	1,00	0,76	3,07	2,92	9,89				114,03	3	28
19	24. III.	Fleisch, mit H_2O + Alkohol extrahiert, 1,2 g (nach 1 Std.)	0,44	1,18	1,09	0,79	3,43	3,17	10,79	+ 11,7	+ 8,6	+ 9,0	114,70	3	28
20	26. III.	Nüchtern	0,45	1,04	0,98	0,77	3,09	2,91	9,88				112,06	3	28
21	26. III.	Fleisch, 7 g (nach 1¼ Std.)	0,51	1,36	1,22	0,81	3,94	3,54	12,10	+ 27,5	+ 21,6	+ 22,4	115,02	3	28
22	27. III.	Nüchtern	0,68	1,10	1,02	0,78	3,33	3,09	10,51				110,08	3	28
23	27. III.	Fleisch, m. H_2O extrah., 1,3 g (nach 1¼ Std.)	0,69	1,31	1,20	0,80	3,94	3,61	12,32	+ 18,3	+ 16,9	+ 17,2	110,75	3	28
24	28. III.	Nüchtern	0,55	1,18	1,16	0,74	3,64	3,58	12,08				108,19	3	28
25	28. III.	Fleisch, mit H_2O + Alkohol extrahiert, 1,5 g (nach 1 Std.)	0,70	1,32	1,24	0,77	4,06	3,82	12,90	+ 11,5	+ 6,7	+ 6,8	108,30	3	28
26	29. III.	Nüchtern	0,74	1,27	1,19	0,775	3,99	3,74	12,71				106,03	3	28
27	29. III.	Fleisch, 7 g (nach 1¼ Std.)	0,80	1,70	1,50	0,82	5,18	4,57	15,64	+ 30,0	+ 22,0	+ 23,0	109,40	3	28

Wir finden am 23. März während der Schilddrüsenbehandlung nach Aufnahme von 1,6 g mit Wasser extrahierten Fleisches (= etwa 8 g rohen Fleisches) eine Erhöhung der Kalorienproduktion von 15,6 Proz., und am 27. März nach 1,3 g dieses Fleisches (= etwa 6,5 g rohen Fleisches) eine Stoffwechselerhöhung von 17,2 Proz.

Viel niedriger ist die spezifisch-dynamische Wirkung des mit Wasser und Alkohol extrahierten Fleisches. Wir finden am 24. März nach 1,2 g Fleisch (= etwa 6 g Rindfleisch) eine spezifisch-dynamische Wirkung von 9 Proz., und am 28. März selbst nach Aufnahme von 1,5 g Fleisch (= 7,5 g Rohfleisch) eine Stoffwechselerhöhung von nur 6,8 Proz.

Das rohe Fleisch (je 7 g) rief am 26. März eine Zunahme der Kalorienbildung von 22,4 Proz. und am 29. März von 23 Proz. hervor.

Zusammenfassung.

In weiterer Verfolgung der Abhängigkeit der spezifisch-dynamischen Wirkung von der *qualitativen Beschaffenheit* des aufgenommenen Nahrungsstoffes wurde die spezifisch-dynamische Wirkung des rohen und des vitaminfreien Fleisches miteinander verglichen. Es hat sich gezeigt, daß die spezifisch-dynamische Fleischwirkung mit dem Vitamingehalt des Fleisches in Zusammenhang steht. Mit Wasser, Alkohol und Äther sorgfältig extrahiertes Fleisch wirkt bei gleichem N-Gehalt schwächer spezifisch-dynamisch als rohes Fleisch. Mit Wasser allein extrahiertes Fleisch wirkt fast ebenso stark spezifisch-dynamisch wie rohes Fleisch.

Verbesserte Methode zur Messung der Atmung und Glykolyse.

Von

Otto Warburg.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 20. August 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Wir verfügen[1]) über eine Methode zur manometrischen Messung der Atmung unter Bedingungen, unter denen der Kohlensäuredruck Null ist (Kalilauge im Einsatz), und über eine Methode zur manometrischen Messung der Glykolyse unter Bedingungen, unter denen der Sauerstoffdruck Null ist. Dagegen fehlt eine Methode zur manometrischen Messung der Atmung bei Gegenwart von freier Kohlensäure und eine Methode zur manometrischen Messung der Glykolyse bei Gegenwart von Sauerstoff[2]), d. h. eine Methode zur Messung des Stoffwechsels unter physiologischen Bedingungen. Eine solche Methode wird im folgenden beschrieben. Sie beruht auf der Tatsache, daß Kohlensäure in Wasser leichter löslich ist als Sauerstoff, sowie auf der Anwendung der Gasgesetze und des Henrischen Verteilungssatzes.

Die Versuchsobjekte sind entweder freie oder zu Geweben verbundene Zellen, im letzteren Falle Gewebeschnitte, deren Dicke kleiner ist als[1])

$$\sqrt{8\, c_0 \frac{D}{A}},$$

wo c_0 den Sauerstoffdruck, D den *Krogh*schen[3]) Diffusionskoeffizienten für Sauerstoff und A die Sauerstoffatmung des Gewebes bedeutet.

Wir besprechen die Methode in folgenden Abschnitten:

I. Prinzip.
II. Ausführung.
III. Genauigkeit.

---

[1]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **142**, 317, 1923.

[2]) Ist die Atmung gegen die Glykolyse zu vernachlässigen, so ist nach der in dieser Zeitschr. **142**, 317, 1923 beschriebenen Methode eine näherungsweise Messung der Glykolyse auch bei Gegenwart von Sauerstoff möglich.

[3]) *A. Krogh*, Journ. of Physiol. **52**, 391, 1919.

I. Prinzip.

1. In einem teilweise mit Ringerlösung gefüllten und durch ein Flüssigkeitsmanometer verschlossenen Gefäß entsteht oder verschwindet ein Gas. Das Gefäß wird in einem Wasserthermostaten so schnell bewegt, daß zwischen Gas- und Flüssigkeitsraum zu jeder Zeit praktisch Absorptionsgleichgewicht herrscht. Beträgt die Druckänderung bei konstantem Volumen h mm und wird Druckzunahme positiv, Druckabnahme negativ gerechnet, so ist die entstandene Gasmenge[1] (0°, Normaldruck)

$$x = h\left[\frac{v_G \frac{273}{T} + v_F \alpha}{P_0}\right] \tag{1}$$

Hier bedeutet P_0 den Normaldruck in Millimetern Sperrflüssigkeit, v_G das Volumen des Gasraumes bis zum Meniskus der Sperrflüssigkeit, T die absolute Temperatur des Thermostaten, v_F das Volumen der Ringerlösung, α den *Bunsen*schen Absorptionskoeffizienten des Gases, das entsteht oder verschwindet. Drücken wir v_G und v_F in Kubikmillimetern aus, so erhalten wir x in Kubikmillimetern. Da der eingeklammerte Ausdruck — die Gefäßkonstante K — immer positiv ist, so wird x positiv, wenn Gas entsteht, negativ, wenn Gas verschwindet.

Der Wert der Gefäßkonstante K ändert sich mit der chemischen Natur des Gases, das entsteht oder verschwindet, weil α für die verschiedenen Gase verschieden ist. Wir unterscheiden die Gefäßkonstanten, indem wir ihnen die Formelzeichen der verschiedenen Gase als Indizes beifügen und schreiben

$$\begin{aligned} x_{O_2} &= h_{O_2} K_{O_2}, \\ x_{CO_2} &= h_{CO_2} K_{CO_2}, \\ x_{N_2} &= h_{N_2} K_{N_2} \quad \text{usw.} \end{aligned}$$

Für kleine Werte von v_F verschwindet in Gleichung 1 das mit α behaftete Glied, und alle Gefäßkonstanten werden gleich,

$$K_{O_2} = K_{CO_2} = K_{N_2}.$$

Man beachte, daß K unabhängig ist von dem in dem Gefäße herrschenden Gesamtdruck. Unabhängig von dem Gesamtdruck zeigt jedes Millimeter Druckänderung das Entstehen oder Verschwinden der gleichen Gasmenge — nämlich von K cmm Gas — an.

2. Von dem einfachen Falle, daß nur *ein* Gas entsteht oder verschwindet, gehen wir zu dem komplizierteren Falle über, daß *mehrere*

---

[1]) Vgl. *O. Warburg*, diese Zeitschr. **100**, 230, 1919, insbesondere S. 242. Bei der Ableitung ist vorausgesetzt, daß das Volumen der Manometerkapillare bis zum Meniskus der Sperrflüssigkeit klein ist gegen v_G.

Gase entstehen oder verschwinden. Dann ist die beobachtete Druckänderung h gleich der Summe der Druckänderungen der entstandenen oder verschwundenen Gase.

Wir behandeln hier den Fall, daß Sauerstoff verschwindet und Kohlensäure entsteht. In der Ringerlösung unseres Versuchsgefäßes ist ein Gewebeschnitt suspendiert, mit Hilfe der Gasanalyse ist festgestellt[1]), daß andere Gase als Sauerstoff und Kohlensäure weder entstehen noch verschwinden. Bezeichnen wir mit h_{O_2} die Druckänderung des Sauerstoffs, mit h_{CO_2} die Druckänderung der Kohlensäure, mit h die *beobachtete* Druckänderung, mit γ das Verhältnis $\frac{x_{CO_2}}{x_{O_2}}$, so haben wir

$$x_{O_2} = h_{O_2} k_{O_2} \tag{2}$$

$$x_{CO_2} = h_{CO_2} k_{CO_2}, \tag{3}$$

$$x_{CO_2} = \gamma\, x_{O_2}, \tag{4}$$

$$h = h_{O_2} + h_{CO_2}, \tag{5}$$

und nach x_{O_2} aufgelöst

$$x_{O_2} = h\left[\frac{k_{CO_2} \cdot k_{O_2}}{k_{CO_2} + \gamma\, k_{O_2}}\right], \tag{6}$$

oder nach x_{CO_2} aufgelöst

$$x_{CO_2} = h\left[\frac{k_{CO_2} \cdot k_{O_2}}{\frac{k_{CO_2}}{\gamma} + k_{O_2}}\right] \tag{7}$$

Gleichungen, die eine Berechnung von x_{O_2} und x_{CO_2} gestatten, wenn γ bekannt ist.

Was die Bestimmung von γ anbetrifft, so bedenken wir, daß h von v_G und v_F abhängt. Ändern wir — bei konstanter Zellmenge — v_F, so ändert sich auch h, während x_{O_2} unverändert bleibt. Führen wir also zwei Messungen mit verschiedenen v_F, aber unter sonst gleichen Bedingungen aus, so erhalten wir zwei Gleichungen von der Form (6):

$$x_{O_2} = h\left[\frac{k_{CO_2} \cdot k_{O_2}}{k_{CO_2} + \gamma\, k_{O_2}}\right] \tag{6a}$$

$$x_{O_2} = H\left[\frac{K_{CO_2} \cdot K_{O_2}}{K_{CO_2} + \gamma\, K_{O_2}}\right] \tag{6b}$$

in denen alle Größen, die sich mit v_F ändern, durch kleine und große Buchstaben unterschieden sind und h und H die in gleichen Zeiten beobachteten Druckänderungen bedeuten.

---

[1]) Bakterien entwickeln oft neben Kohlensäure noch Wasserstoff und Stickstoff. Ihr Stoffwechsel ist nur ausnahmsweise so einfach, daß er manometrisch gemessen werden kann.

(6a) und (6b), nach γ aufgelöst, ergeben

$$\gamma = \frac{K_{CO_2} \cdot k_{CO_2}}{K_{O_2} \cdot k_{O_2}} \cdot \frac{H K_{O_2} - h k_{O_2}}{h k_{CO_2} - H K_{CO_2}}. \tag{8}$$

Ehe wir die Gleichungen (6), (7) und (8) diskutieren, machen wir uns die Bedeutung der Größen x_{O_2}, x_{CO_2} und γ klar. x_{O_2} ist der veratmete Sauerstoff, x_{CO_2} ist die gesamte in Freiheit gesetzte Kohlensäure, also nicht nur Atmungskohlensäure, sondern auch Kohlensäure, die aus dem Bicarbonat der Ringerlösung durch andere Säuren ausgetrieben ist. Da x_{O_2} negativ, x_{CO_2} positiv, so ist γ, das Verhältnis $\frac{x_{CO_2}}{x_{O_2}}$, negativ. Ist x_{CO_2} klein gegen $-x_{O_2}$, wird $\gamma = 0$, ist x_{CO_2} groß gegen $-x_{O_2}$, wird $\gamma = -\infty$. γ liegt also zwischen Null und $-\infty$.

Diskussion der Gleichung (8). Wenn v_F klein gegen v_G, so wird nach (1)

$$k_{CO_2} = k_{O_2}, \quad K_{CO_2} = K_{O_2}$$

und (6a), (6b) und (8) gehen über in

$$x_{O_2} = h \frac{k}{1+\gamma},$$

$$x_{O_2} = H \frac{K}{1+\gamma},$$

$$\gamma = \frac{0}{0},$$

d. h. γ bleibt unbestimmt.

Nur wenn k_{CO_2} verschieden von k_{O_2} oder K_{CO_2} verschieden von K_{O_2}, ist γ aus den Gleichungen (6a) und (6b) bestimmbar, eine Bedingung, die verlangt, daß v_F relativ groß ist, und außerdem, daß die Löslichkeiten der entstehenden und verschwindenden Gase verschieden sind, wie α_{CO_2} und α_{O_2}.

Ist

$$H K_{O_2} - h k_{O_2} = 0,$$

$$\frac{H}{h} = \frac{k_{O_2}}{K_{O_2}},$$

so wird $\gamma = 0$.

Ist

$$h k_{CO_2} - H K_{CO_2} = 0,$$

$$\frac{H}{h} = \frac{k_{CO_2}}{K_{CO_2}},$$

so wird $\gamma = -\infty$.

Ist $|H|$ klein gegen $|h|$, so wird

$$\gamma = -\frac{K_{CO_2}}{K_{O_2}}.$$

Ist $|h|$ klein gegen $|H|$, so wird

$$\gamma = -\frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}}.$$

Diskussion der Gleichungen (6) *und* (7). Wir setzen den Faktor von h in Gleichung (6)

$$\frac{k_{CO_2} \cdot k_{O_2}}{k_{CO_2} + \gamma k_{O_2}} = \varkappa_{O_2},$$

in Gleichung (7)

$$\frac{k_{CO_2} \cdot k_{O_2}}{\frac{k_{CO_2}}{\gamma} + k_{O_2}} = \varkappa_{CO_2},$$

und untersuchen den Einfluß von γ auf die Werte von $\varkappa_{O_2}$ und $\varkappa_{CO_2}$.

Ist γ klein, d. h. x_{CO_2} klein gegen $-x_{O_2}$, so wird

$$\varkappa_{O_2} = k_{O_2}$$

und (6) geht über in (1)

$$x_{O_2} = h k_{O_2}.$$

Ist γ groß, d. h. x_{CO_2} groß gegen $-x_{O_2}$, so wird

$$\varkappa_{CO_2} = k_{CO_2},$$

und (7) geht über in (1)

$$x_{CO_2} = h k_{CO_2}.$$

Ist $\gamma = -\frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}}$, so wird

$$\varkappa_{CO_2} = \pm\infty, \quad \varkappa_{O_2} = \pm\infty$$

und h für jeden Wert von x_{CO_2} und x_{O_2} gleich Null.

Ist $-\gamma < \frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}}$, so ist $\varkappa_{O_2}$ positiv, $\varkappa_{CO_2}$ negativ.

Ist $-\gamma > \frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}}$, so ist $\varkappa_{O_2}$ negativ, $\varkappa_{CO_2}$ positiv.

Die Vorzeichen von $\varkappa_{O_2}$ und $\varkappa_{CO_2}$ sind also stets entgegengesetzt, in dem Punkte $-\gamma = \frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}}$ vertauschen $\varkappa_{O_2}$ und $\varkappa_{CO_2}$ ihre Vorzeichen.

Daraus folgt, daß auch h in dem Punkte $-\gamma = \frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}}$ sein Vorzeichen ändert. Denn h besitzt immer dasselbe Vorzeichen, wie $\varkappa_{CO_2}$ und das entgegengesetzte Vorzeichen wie $\varkappa_{O_2}$ (weil x_{O_2} negativ, x_{CO_2} positiv ist).

3. Nach unseren bisherigen Erfahrungen liegt γ für Säugetiergewebe zwischen $-0,5$ und -1, wenn die Ringerlösung frei von organischen Stoffen ist, zwischen -1 und -4, wenn die Ringerlösung Traubenzucker enthält. Es erscheint also bei Zusatz von Traubenzucker Kohlensäure, die *nicht* Atmungskohlensäure ist. Wir nennen sie „Extrakohlensäure" und setzen

$$\text{Extrakohlensäure} = x_{CO_2} + x_{O_2}, \qquad (9)$$

indem wir annehmen, daß bei Gegenwart von Traubenzucker

$$\text{Atmungskohlensäure} = -x_{O_2}.$$

Die Extrakohlensäure, die bei Zusatz von Zucker erscheint, stammt aus dem Bicarbonat der Ringerlösung, aus dem sie durch eine stärkere Säure ausgetrieben ist. In allen näher untersuchten Fällen erwies sich diese Säure als Milchsäure. Waren $(x_{CO_2} + x_{O_2})$ cmm Extrakohlensäure erschienen, so war eine äquivalente Menge Bicarbonat aus der Ringerlösung verschwunden, eine äquivalente Menge Milchsäure an die Ringerlösung abgegeben. In allen Fällen, für die dies wahr ist, mißt die Extrakohlensäure die Glykolyse und bedeuten die Gleichungen (6), (7) und (8) die Lösung unserer Aufgabe: Atmung und Glykolyse bei Gegenwart von Kohlensäure und Sauerstoff zu messen.

4. Einfacher als die Messung der Glykolyse bei Gegenwart von Sauerstoff ist die Messung der Glykolyse bei Abwesenheit von Sauerstoff. Hier ist die gesamte in Freiheit gesetzte Kohlensäure Extrakohlensäure, ihre Messung geschieht nach der Gleichung

$$x_{CO_2} = h_{CO_2} \cdot k_{CO_2},$$

wo h_{CO_2} gleich der beobachteten Druckänderung h ist.

Ist die Ringerlösung frei von organischen Stoffen, so erscheinen nur Spuren, enthält die Ringerlösung Traubenzucker, so erscheinen oft große Mengen Extrakohlensäure. Auch hier hat die chemische Untersuchung Äquivalenz zwischen Extrakohlensäure und Milchsäure ergeben. In allen Fällen, für die dies wahr ist, mißt x_{CO_2} die Glykolyse.

5. Sauerstoffverbrauch und Bildung von Extrakohlensäure reduzieren wir auf die Gewichtseinheit Gewebe (Trockensubstanz) und auf die Zeiteinheit. Beträgt das Schnittgewicht m mg und die Versuchszeit t Stunden, so bilden wir die Quotienten:

$$Q_{O_2} = \frac{x_{O_2}}{m \cdot t} \text{ (Atmung)},$$

$$Q_{CO_2}^{O_2} = \frac{x_{CO_2}^{O_2} + x_{O_2}}{m \cdot t} \text{ (Extrakohlensäure in Sauerstoff)},$$

$$Q_{CO_2}^{N_2} = \frac{x_{CO_2}^{N_2}}{m \cdot t} \text{ (Extrakohlensäure in Stickstoff)},$$

indem wir, je nachdem die Messung von x_{CO_2} in Sauerstoff oder Stickstoff geschah, die Formelzeichen O_2 und N_2 als obere Indizes beifügen.

II. Ausführung.

Zur Bestimmung von x_{O_2}, $x_{CO_2}^{O_2}$ und $x_{CO_2}^{N_2}$ verwenden wir vier Gefäße von der Form der Abb. 1, die wir mit *A*, *B*, *C* und *D* bezeichnen. Ihr Rauminhalt einschließlich Manometerkapillare bis zum Meniskus der Sperrflüssigkeit beträgt 12 bis 13 ccm und wird durch Auswiegen mit Quecksilber bestimmt. Der Stopfen *St* ist konisch ausgebohrt, die Bohrung bis zum Beginn der Manometerkapillare mit festem hochschmelzenden Paraffin überzogen, um ein Überkriechen von Flüssigkeit in die Manometerkapillare zu verhindern. Die Manometerkapillare besitzt einen Durchmesser von 0,8 bis 1 mm.

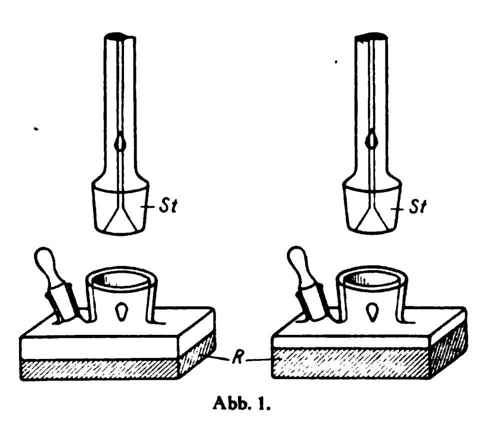


Abb. 1.

Wir verbinden die leeren Gefäße mit ihren Manometern, füllen durch die Tuben Ringerlösung ein, sättigen die Ringerlösung mit 5 Vol.-Proz. Kohlensäure in Sauerstoff oder 5 Vol.-Proz. Kohlensäure in Stickstoff, legen den Gewebeschnitt in die Ringerlösung und verdrängen die Luft aus dem Gasraum durch dasselbe Gasgemisch.

Als Manometer benutzen wir eine alte Form *Barcroft*scher Blutgasmanometer[1]), deren Sperrflüssigkeit durch eine Schraube so reguliert wird, daß das Volumen während der Messung konstant bleibt. Die Sperrflüssigkeit ist *Brodie*sche Lösung, von der 10000 mm gleich 760 mm Quecksilber. Die Manometer sind an dem Thermostaten, wie früher beschrieben[2]), montiert. Die Schüttelgeschwindigkeit reicht aus, um Gas- und Flüssigkeitsraum im Absorptionsgleichgewicht zu halten, eine Vermehrung der Schüttelgeschwindigkeit bedingt keine Änderung der Ausschläge.

Gefäß D dient als Thermobarometer. Es wird mit einigen Kubikzentimetern Ringerlösung und mit einer Gasmischung, die 5 Vol.-Proz. Kohlensäure enthält, gefüllt.

---

[1]) Keine Differentialmanometer!

[2]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **142**, 317, 1923.

Gefäß C dient zur Bestimmung von $x_{CO_2}^{N_2}$ nach Gleichung (1). Es wird mit 3 ccm Ringerlösung und 5 Vol.-Proz. Kohlensäure in Stickstoff gefüllt.

Die Gefäße B und A dienen zur Bestimmung von γ, $x_{CO_2}^{O_2}$ und x_{O_2} nach den Gleichungen (8), (7) und (6). Zwar ist nach Abschnitt I nur *ein* Gefäß zur Bestimmung der drei genannten Größen erforderlich, indem man H und h für denselben Gewebeschnitt in aufeinanderfolgenden Zeiten mißt. Doch ziehen wir es vor, H und h gleichzeitig zu messen, um zeitliche Änderungen des Stoffwechsels zu eliminieren, und brauchen dann zwei Gewebeschnitte und zwei Gefäße mit verschiedenen v_F.

Wir füllen in Gefäß A 3 ccm, in Gefäß B 8 ccm Ringerlösung (vgl. Abb. 1), sättigen mit 5 Vol.-Proz. Kohlensäure in Sauerstoff bringen in jedes Gefäß einen Gewebeschnitt, verdrängen die Luft durch 5 Vol.-Proz. Kohlensäure in Sauerstoff und messen die Druckänderungen, die in beiden Gefäßen in gleichen Zeiten auftreten. Ist dies geschehen, so nehmen wir die Schnitte aus den Gefäßen heraus, spülen sie kurz in destilliertem Wasser ab, trocknen bei 100^0 bis zur Konstanz und wägen auf einer *Kuhlmann*schen Mikrowage.

Hat a mg Gewebe in Gefäß A die Druckänderung h hervorgebracht und b mg Gewebe in Gefäß B die Druckänderung H', so berechnen wir H nach der Gleichung

$$H = H' \frac{a}{b}, \tag{10}$$

und setzen h und H — die in gleichen Zeiten durch gleiche Schnittgewichte hervorgebrachten Druckänderungen — in Gleichung (8) ein. Wir erhalten so γ und durch Einsetzen von γ in (6) und (7) x_{O_2} und $x_{CO_2}^{O_2}$.

Erfordernis hierbei ist, daß die in A und B eingetragenen Gewebeschnitte gleichartig sind, d. h. daß sie pro Gewichtseinheit die gleiche Menge Sauerstoff verbrauchen und die gleiche Menge Kohlensäure in Freiheit setzen. Denn bei der Ableitung der Gleichung (8) ist vorausgesetzt, daß x_{O_2} bei Variierung des v_F konstant bleibt. Am liebsten benutzen wir für die Gefäße A und B zwei möglichst gleiche Hälften ein und desselben Schnittes.

Technische Einzelheiten.

1. Die *Ringerlösung* ist dem Serum des Versuchstieres isoton. Dem Serum isotone Stammlösungen von $NaCl$, KCl, $CaCl_2$ und $NaHCO_3$ werden hergestellt und 96 Raumteile $NaCl$-, 2 Raumteile KCl- und 2 Raumteile $CaCl_2$-Lösung mit so viel Raumteilen $NaHCO_3$-Lösung gemischt, daß die $NaHCO_3$-Konzentration 0,015 Mole pro Liter beträgt.

Rattenserum gefriert bei etwa $-0{,}56^0$. Die isotone Stammbicarbonatlösung ist 0,15 molar und reagiert, aus käuflichem Bicarbonat

und destilliertem Wasser hergestellt, im allgemeinen gegen Phenolphthalein alkalisch. Der NaCl-, KCl-, $CaCl_2$-Lösung zugesetzt, erzeugt sie einen Niederschlag von $CaCO_3$, der sich nur langsam beim Einleiten der kohlensäurehaltigen Versuchsgasmischung wieder auflöst. Wir vermeiden die Niederschlagsbildung, indem wir die Stammbicarbonatlösung so lange mit 100proz. Kohlensäure behandeln, bis Phenolphthalein eben nicht mehr gerötet wird.

2. Die *Gasgemische* stellen wir aus den in Stahlflaschen gelieferten käuflichen Gasen her. Der Sauerstoff, den wir beziehen, enthält etwa 3 Vol.-Proz. Stickstoff, der Stickstoff etwa 0,75 Proz. Sauerstoff. Wir spülen große Stahlflaschen zunächst mit Sauerstoff oder Stickstoff, füllen dann Kohlensäure bis zu einem Überdruck von 5 Atm. ein und weiterhin so viel Sauerstoff oder Stickstoff, daß die Gasmischung etwa 5 Vol.-Proz. Kohlensäure enthält. Die genaue Zusammensetzung der Mischung ermitteln wir, nachdem die Stahlflaschen 24 Stunden horizontal gelegen haben, durch Analyse im *Haldane*schen Apparat.

Aus käuflichen Gasen hergestellt, ist das Gemisch „Kohlensäure in Sauerstoff" mit 3 Vol.-Proz. Stickstoff, das Gemisch „Kohlensäure in Stickstoff" mit 0,7 Vol.-Proz. Sauerstoff verunreinigt.

Die erstere Verunreinigung ist immer belanglos, die letztere im allgemeinen nicht. „Kohlensäure in Stickstoff" dient zur Messung der Glykolyse unter Bedingungen, unter denen die Zelle nicht atmet. Es erhält aber in 1 Vol.-Proz. Sauerstoff ein Gewebeschnitt bis zur Tiefe[1])

$$\frac{1}{2}\sqrt{8 \cdot 0{,}01 \frac{D}{A}}$$

noch genügend Sauerstoff zur Atmung, und je nach der Größe der Atmung und der Dicke des Gewebeschnittes kann diese Tiefe ein erheblicher Bruchteil der Schnitt-Dicke sein.

Soll die Anoxybiose vollständiger sein, so passiert die Mischung „Kohlensäure in Stickstoff" auf ihrem Wege von der Stahlflasche in die Ringerlösung ein glühendes, mit metallischem Kupfer gefülltes Rohr. Immer ist diese Reinigung erforderlich, wenn man mit isolierten Zellen arbeitet, denn hier genügt 1 Vol.-Proz. Sauerstoff zur Versorgung der Zellen mit dem zur Atmung notwendigen Sauerstoff.

3. Die Herstellung der *Gewebeschnitte* ist früher ausführlich[1]) beschrieben. Es ist nachzutragen, daß das Rasiermesser, mit dem man schneidet, mit Ringerlösung, nicht mit Wasser befeuchtet werden soll.

Die Wasserstoffionenkonzentration.

Durch die Konzentration des Bicarbonats und der freien Kohlensäure ist die Konzentration der Wasserstoffionen festgelegt. Richten

[1]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. 142, 317, 1923.

wir den Versuch so ein, daß sich die Konzentrationen des Bicarbonats und der freien Kohlensäure während des Versuchs nicht merklich ändern, so bleibt auch die Konzentration der Wasserstoffionen während des Versuchs praktisch konstant.

Hasselbalch[1]) schreibt die Gleichung der ersten elektrolytischen Dissoziation der Kohlensäure in der Form

$$p_H = p_K + \log \delta + \log \frac{NaHCO_3}{CO_2}.$$

Hier bedeutet p_H den negativen Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration, p_K den negativen Logarithmus der ersten Dissoziationskonstante der Kohlensäure, δ den Dissoziationsgrad des Bicarbonats, $NaHCO_3$ die Gesamtkonzentration an Bicarbonat und CO_2 die Konzentration der freien Kohlensäure.

Für $\log p_K + \log \delta$ findet *Hasselbalch* bei 38° und einer Bicarbonatkonzentration von 0,015 Molen/Liter den Wert 6,36. Die Konzentration der freien Kohlensäure in Molen/Liter ist bei einem Kohlensäuredruck von P mm Hg

$$CO_2 = \frac{P}{760} \frac{\alpha_{CO_2} \cdot 1000}{22400},$$

und mit $\alpha_{CO_2} = 0{,}56$ (Absorptionskoeffizient der Kohlensäure für Ringerlösung bei 38°)

$$CO_2 = P \,.\, 3{,}28 \,.\, 10^{-5}.$$

Sättigt man die Ringerlösung bei 38° und Normaldruck mit einem Gasgemisch, das 5 Vol.-Proz. Kohlensäure enthält, so ist

$$P = 0{,}05 \,.\, (760 - 48) = 36 \text{ mm Hg},$$

$$CO_2 = 36 \,.\, 3{,}28 \,.\, 10^{-5} = 1{,}18 \,.\, 10^{-3}$$

und für $NaHCO_3 = 0{,}015$ Mole/Liter

$$p_H = 6{,}36 + \log \frac{1.5 \,.\, 10^{-2}}{1{,}18 \,.\, 10^{-3}} = 7{,}46.$$

Dies ist der Anfangswert des p_H bei unserer Versuchsanordnung, während der Mittelwert des p_H im Kreislauf nach *Hasselbalch*[2]) 7,43 ist.

Die Carbonatkonzentration.

Aus den beiden Gleichungen für die elektrolytische Dissoziation der Kohlensäure

$$\frac{H^+ \,.\, HCO_3^-}{CO_2} = k_1, \quad \frac{H^+ \,.\, CO_3^{--}}{HCO_3^-} = k_2$$

[1]) *Hasselbalch*, ebendaselbst 78, 112, 1917.

[2]) *Hasselbalch*, l. c.

ergibt sich durch Division

$$\frac{(HCO_3^-)^2}{CO_3^{--} . CO_2} = \frac{k_1}{k_2}. \tag{11}$$

Bezeichnen wir mit δ den Dissoziationsgrad des Bicarbonats, mit β den Dissoziationsgrad des Carbonats, so kann man statt (11) schreiben

$$\frac{(NaHCO_3)^2}{Na_2CO_3 . CO_2} = \frac{k_1}{k_2} \frac{\beta}{\delta^2} = K, \tag{12}$$

wo $NaHCO_3$ und Na_2CO_3 die Gesamtkonzentrationen an Bicarbonat und Carbonat, CO_2 die Konzentration der freien Kohlensäure bedeuten.

Nach (12) enthält eine kohlensäurehaltige Bicarbonatlösung immer eine gewisse Menge Carbonat. Entwickelt der Gewebeschnitt Kohlensäure oder Milchsäure, so setzt sich ein Teil der entstandenen Säure mit dem Carbonat zu Bicarbonat um und entgeht der manometrischen Messung.

Aus Messungen von *Seyler* und *Lloyd*[1]) kann unter gewissen vereinfachenden Annahmen berechnet werden, daß K der Gleichung (12) für 38⁰ und eine Bicarbonatkonzentration von $1{,}5 . 10^{-2}$ Molen/Liter rund 6000 ist. Daraus ergibt sich mit $CO_2 = 1{,}2 . 10^{-3}$ und $NaHCO_3 = 1{,}5 . 10^{-2}$ Molen/Liter die Gesamtkonzentration an Na_2CO_3

$$Na_2CO_3 = 3{,}2 . 10^{-5} \text{ Mole/Liter.}$$

Dies ist die Anfangskonzentration an Carbonat bei unserer Versuchsanordnung. Scheidet der Gewebeschnitt Kohlensäure aus, so wächst die Konzentration der freien Kohlensäure, scheidet er außerdem Milchsäure aus, so sinkt gleichzeitig die Konzentration des Bicarbonats. Infolge beider Umstände nimmt die Konzentration des Carbonats gemäß Gleichung (12) ab, und die Differenz der Anfangskonzentration und der Endkonzentration an Carbonat ergibt die Menge der chemisch gebundenen, der manometrischen Messung entgangenen Säure, eine Größe, die in jedem Falle nach Gleichung (12) berechnet und dem manometrisch gefundenen Wert von x_{CO_2} hinzuaddiert werden kann.

Doch überzeugt man sich, daß diese Korrektion im allgemeinen zu vernachlässigen ist, wenn man die Ringerlösung mit 5 Vol.-Proz. Kohlensäure sättigt und sich auch im übrigen an die beschriebene Anordnung hält. Verwendet man jedoch zur Sättigung der Ringerlösung Gasgemische, die frei von Kohlensäure sind, so wird die Carbonatkonzentration unbestimmt und damit die manometrische Messung unbrauchbar.

III. Genauigkeit.

In den Formeln zur Berechnung von γ, x_{O_2}, $x_{CO_2}^{O_2}$ und $x_{CO_2}^{N_2}$ kommen die Gefäßkonstanten und die Druckänderungen vor. Die Fehler in

[1]) *Seyler* und *Lloyd*, Journ. Chem. Soc. London **111**, 138, 1917.

den Gefäßkonstanten sind, wenn die Eichung der Gefäße und die Abmessung der Ringerlösung in sachgemäßer Weise geschah, gegen die Fehler bei den Druckmessungen zu vernachlässigen, und es bleibt zu untersuchen, wie letztere auf γ, x_{O_2}, $x_{CO_2}^{O_2}$ und $x_{CO_2}^{N_2}$ wirken.

Der Fehler Δ einer Druckmessung ist $\pm 0{,}5$ mm und mit $h = 50$ bis 100 nicht größer als 1 Proz. Von derselben Größe ist der Fehler in $x_{CO_2}^{N_2}$, das aus h durch Multiplikation mit der Gefäßkonstanten K_{CO_2} erhalten wird.

Zur Beurteilung des Fehlers in γ dividieren wir in Gleichung (8) Zähler und Nenner der rechten Seite durch K_{O_2} und berücksichtigen, daß K_{CO_2} angenähert gleich k_{CO_2}. Dann geht Gleichung (8) über in

$$\gamma = \frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}} \cdot \frac{H - h\,\dfrac{k_{O_2}}{K_{O_2}}}{h - H}$$

und für die Abmessungen unserer Versuchsgefäße (vgl. Tabelle I) in

$$\gamma = \frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}} \cdot \frac{H - 1{,}74\,h}{h - H}.$$

Hiernach ist der Fehler in γ gleich dem Fehler in $\dfrac{H - 1{,}74\,h}{h - H}$, und die Anordnung bei der Bestimmung von γ so zu treffen, daß die absoluten Werte von $H - 1{,}74\,h$ und $h - H$ möglichst groß werden.

In Tabelle I findet man die prozentischen Fehler in γ für den konkreten Fall, daß $x_{O_2} = -40$ cmm (das entspricht dem Sauerstoffverbrauch von einigen Milligrammen Lebergewebe pro Stunde), daß der Fehler bei einer Druckmessung $\pm 0{,}5$ mm und daß die Fehler in h und H sich in ihrer Wirkung auf das Resultat verstärken. H und h

Tabelle I. Berechnet für 38° und $x_{O_2} = -40$ cmm.

γ	Gefäß B: $v_F = 8{,}0$, $v_G = 5{,}02$, $K_{CO_2} = 0{,}89$, $K_{O_2} = 0{,}46$		Gefäß A: $v_F = 3{,}0$, $v_G = 9{,}02$, $k_{CO_2} = 0{,}96$, $k_{O_2} = 0{,}80$		Fehler in γ für $\Delta h = -\Delta H = \pm 0{,}5$ mm
	$\dfrac{K_{CO_2} \cdot K_{O_2}}{K_{CO_2} + \gamma K_{O_2}}$ (Nach Gleichung 6b)	H mm	$\dfrac{k_{CO_2} \cdot k_{O_2}}{k_{CO_2} + \gamma k_{O_2}}$ (Nach Gleichung 6a)	h mm	Proz.
0	+ 0,46	— 87	+ 0,80	— 50	—
— 0,7	+ 0,73	— 55	+ 1,9	— 21	3
— 0,9	+ 0,86	— 46,5	+ 3,2	— 12,5	3
— 1,0	+ 0,96	— 41,7	+ 4,8	— 8,3	2
— 1,5	+ 2,1	— 19	— 3,2	+ 12,5	1
— 2,0	— 13,6	+ 3,0	— 1,2	+ 33	1
— 3,0	— 0,84	+ 48	— 0,54	+ 74	1,3
— 4,0	— 0,43	+ 93	— 0,34	+ 118	2

sind aus den Gleichungen (6a) und (6b) gewonnen, für γ sind Werte zwischen $-0{,}7$ und $-4{,}0$ eingesetzt. Die Tabelle zeigt, daß der Fehler in γ je nach der Größe von γ verschieden ist und daß er zwischen 1 und 3 Proz. liegt.

Ist γ berechnet, so stehen zur Berechnung von x_{O_2} und x_{CO_2} je zwei Gleichungen zur Verfügung:

$$x_{O_2} = h \frac{k_{CO_2} \cdot k_{O_2}}{k_{CO_2} + \gamma k_{O_2}} \qquad (6a)$$

oder

$$x_{O_2} = H \frac{K_{CO_2} \cdot K_{O_2}}{K_{CO_2} + \gamma K_{O_2}}, \qquad (6b)$$

$$x_{CO_2} = h \frac{k_{CO_2} \cdot k_{O_2}}{\frac{k_{CO_2}}{\gamma} + k_{O_2}}, \qquad (7a)$$

oder

$$x_{CO_2} = H \frac{K_{CO_2} \cdot K_{O_2}}{\frac{K_{CO_2}}{\gamma} + K_{O_2}}, \qquad (7b)$$

und zwar liefern die a-Gleichungen die genaueren Resultate, wenn $|h| > |H|$, die b-Gleichungen, wenn $|h| < |H|$. Nach den Zahlenwerten der Tabelle I sind beispielsweise die b-Gleichungen zu benutzen, wenn $\gamma = -1{,}0$ und die a-Gleichungen, wenn $\gamma = -3{,}0$. Im ersten Falle erhält man x_{O_2} und x_{CO_2} mit einem Fehler von 3 Proz., im zweiten Falle x_{O_2} mit einem Fehler von 3 Proz. und x_{CO_2} mit einem Fehler von 2 Proz. unter Einsetzung der Zahlenwerte der Tabelle.

Unsere Überlegungen zeigen, daß die Methode bei geeigneter Anordnung der Versuche — passender Wahl der Volumina, der Gewebemengen und der Versuchszeiten — recht genau ist. Doch gilt dies nur unter der Voraussetzung der Gleichung (8), daß die Gewebeschnitte in den Gefäßen A und B gleichartig sind. Wieweit es dem Experimentator gelingt, diese Voraussetzung zu erfüllen, hängt von seiner Geschicklichkeit und Aufmerksamkeit ab, d. h. von Umständen, die sich zahlenmäßig nicht diskutieren lassen.

Anmerkung. Kohlensäure, die eine Zelle als Ammoniumcarbonat oder als Harnstoff ausscheidet, wird von der Methode nicht erfaßt, x_{CO_2} ist die freie, in der Ringerlösung erscheinende Kohlensäure.

In zuckerhaltiger Ringerlösung ist nach unseren bisherigen Erfahrungen die in gebundener Form ausgeschiedene Kohlensäure — mit *einer* Ausnahme, nämlich Niere — gegen x_{CO_2} zu vernachlässigen, in zucker*freier* Ringerlösung dagegen nicht. Hier muß die Bestimmung von x_{CO_2} durch Ammoniak- und Harnstoffbestimmungen ergänzt werden, wenn die gesamte entwickelte Kohlensäure gemessen werden soll.

Der Einfluß der Narkotica auf die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit.

Von

Walter Baumecker.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Halle-Wittenberg.)

(Eingegangen am 22. August 1924.)

Der Einfluß der Narkotica auf die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit ist schon mehrfach im Anschluß an andere Arbeiten über die Senkungsgeschwindigkeit untersucht. Wenn im folgenden dieselbe Frage noch einmal bearbeitet wurde, so geschah das vor allem deswegen, weil die Möglichkeit bestand, damit vielleicht besser in den Wirkungsmechanismus der Narkotica einzudringen, weiterhin aber auch, um vielleicht damit die Erscheinungen der Senkungsgeschwindigkeit aufhellen zu können. Die Ergebnisse der verschiedenen Arbeiten stimmen außerdem keineswegs überein, was zum Teil durch die verschiedene Versuchsanordnung bedingt ist.

Eine deutliche starke Hemmung der Senkungsgeschwindigkeit wurde von *Linzenmeier*[1]) und *Runnström*[2]) bei einer Aufschwemmung der Blutkörperchen in Serum oder anderen kolloiden Lösungen (Gelatine, Na-Nucleinsäure) unter dem Einfluß geringer Mengen eines Narkoticums festgestellt. Im Gegensatz dazu fand *György*[3]) bei einer Suspension der roten Blutkörperchen in wässerigen Lösungen einiger Alkohole sowie von Methyl- und Äthylurethan nur eine geringe Verzögerung der Senkungsgeschwindigkeit in höherer Konzentration, und *Raue*[4]), der die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit in isotonischer Traubenzuckerlösung untersuchte, konnte überhaupt keine Wirkung der von ihm gebrauchten Alkohole sowie von Aceton, Chloroform usw. feststellen. Der Unterschied dieser Ergebnisse ist in der Art der Suspension begründet. Das ergibt sich auch aus anderen Versuchen *Runnströms* (l. c.), bei denen die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit in Ringer- oder Kochsalzlösung unter dem Einfluß der Narkotica untersucht und nur eine sehr geringe Hemmung beobachtet wurde. Diese Befunde haben sich zunächst nach demselben

[1]) *G. Linzenmeier*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **181**, 169, 1920.
[2]) *I. Runnström*, diese Zeitschr. **123**, 1, 1921.
[3]) *P. György*, ebendaselbst **115**, 71, 1921.
[4]) *F. Raue*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **93**, 150, 1920.

Verfasser an Hand der bisher bekannten Tatsachen über die Senkungsgeschwindigkeit dadurch erklären lassen, daß es bei der Hemmung der Senkungsgeschwindigkeit in Serum zu einer verringerten Adsorption der Globuline an die Blutkörperchen und damit auch zu einer geringeren oder vollständig aufgehobenen Agglutination derselben kommt, während andererseits bei Suspension der Blutkörperchen in isotonischer Kochsalzlösung — bei einer Suspension in Zuckerlösung, die auch vermehrte Agglutination zur Folge hat, liegen die Verhältnisse noch anders —, in der an sich keine Agglutination eintritt, im wesentlichen eine Veränderung der Blutkörperchen selbst als Ursache der geringen Senkungshemmung anzunehmen ist. *Runnström* glaubt, daß nach einer von ihm angestellten Berechnung dabei nicht das *Volumen* der roten Blutkörperchen, das unter Alkoholwirkung in bestimmten Konzentrationen nach den Untersuchungen *v. Knaffl-Lenz*[1]) in der Tat abnimmt, eine Rolle spielt, sondern daß diese Hemmung durch eine *Form*veränderung der roten Blutkörperchen unter dem Einfluß des Alkohols zustande kommt.

Für die folgenden Untersuchungen interessierte uns vorwiegend das Verhalten der roten Blutkörperchen in Serum oder Plasma, weil dabei das Phänomen der Senkungshemmung deutlich hervortrat und, wie aus den Untersuchungen *Runnströms* hervorzugehen schien, diese Erscheinung durch eine Beeinflussung des Suspensionsmittels im Sinne einer Dehydratation zu erklären war. Als Stütze für eine solche Entquellung als Ursache der Senkungshemmung führt *Runnström*, ausgehend von Untersuchungen *Spiros*[2]), Versuche an, in denen er die Hitzekoagulierbarkeit des Serums unter Alkoholzusatz prüfte, wobei er nach Zusatz des Narkoticums eine leichtere Hitzekoagulierbarkeit feststellte. Ein direkter Beweis für eine Beziehung zwischen Senkungshemmung und Dehydratation wird jedoch nicht erbracht. *Kochmann*[3]) und Mitarbeiter haben nun gerade zur Erklärung der Wirkung der Narkotica deren entquellende bzw. quellungshemmende Wirkung, wie sie in Versuchen an der Fibrinflocke und am isolierten Muskel deutlich nachzuweisen war, herangezogen. Sie konnten auch eine Übereinstimmung zwischen gerade narkotisch wirkender und gerade quellungshemmender Konzentration zeigen. Da nun auch *Runnström* (l. c.) glaubt, einen solchen Parallelismus zwischen Senkungshemmung und narkotischer Wirkung feststellen zu können, erschien es angebracht, noch einmal systematisch diese Verhältnisse zu untersuchen. In den folgenden Versuchen wurde infolgedessen zunächst festzustellen versucht, ob in der Tat alle Narkotica in gleicher Weise eine Senkungshemmung verursachen, und ob diese Verlangsamung der narkotischen Kraft parallel ging. Das Ergebnis war insofern auffallend, als in be-

---

[1]) *E. v. Knaffl-Lenz*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **171**, 51, 1918; Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **84**, 66, 1918.

[2]) *K. Spiro*, Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 300, 1903.

[3]) *M. Kochmann*, diese Zeitschr. **136**, 49, 1923.

stimmter molarer Konzentration gerade einige der stärksten Narkotica keine Senkungshemmung, sondern eine deutliche Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit hervorriefen.

Da gerade das Fibrinogen einen wesentlichen Einfluß auf die Senkungsgeschwindigkeit ausübt [*Linzenmeier* (l. c.), *Starlinger*[1]) u. a.], wurden die Versuche mit Citratblut vorgenommen und, um einen Vergleich zu ermöglichen, immer das Blut derselben Tierart verwandt. Im einzelnen wurde in folgender Weise vorgegangen:

Schweineblut wurde direkt beim Schlachten des Tieres aufgefangen und sofort mit 5proz. Natriumcitratlösung im Verhältnis 4 : 1 versetzt. Dann wurden jedesmal 9 ccm des Citratblutes mit 1 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung oder dem betreffenden Narkoticum (in 0,9proz. Kochsalzlösung gelöst) gemischt und mit diesen Mischungen die Senkungsröhrchen gefüllt. Es wurden Senkungsröhrchen von 0,6 cm lichter Weite gebraucht und das Blut in diesen bis zu einer Marke, 8 cm hoch, gleichmäßig angefüllt. Bei möglichst gleicher Zimmertemperatur wurde die Höhe der Plasmasäule in Zwischenräumen von 1 Stunde gemessen. Im folgenden sind nur die Werte der Plasmasäule nach 2, 4 und 6 Stunden in Millimetern verzeichnet, da in diesen Zahlen die Senkungswerte hinreichend zum Ausdruck kommen. Jedesmal wurden zwei Kontrollen mit 0,9proz. Kochsalzlösung angesetzt.

Versuchsprotokolle I.

Methylalkohol.

Alkoholkonzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	200 = 0,64 Proz.	100 = 0,32 Proz.	50 = 0,16 Proz.	25 = 0,08 Proz.	12,5 = 0,04 Proz.	6,25 = 0,02 Proz.
2	4,5	4,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	4,5
4	9,0	9,5	7,0	7,5	8,0	8,0	10,0	9,5
6	12,5	13,0	10,0	11,0	11,5	11,5	13,0	13,0

Äthylalkohol.

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	200 = 0,92 Proz.	100 = 0,46 Proz.	50 = 0,23 Proz.	25 = 0,11 Proz.	12,5 = 0,05 Proz.	6,25 = 0,025 Proz.
2	4,0	4,5	2,0	2,0	3,0	3,0	3,5	3,5
4	7,0	7,5	4,0	4,0	5,0	6,0	6,5	6,5
6	9,5	10,0	5,0	6,0	7,5	8,0	8,5	9,0

Propylalkohol (normaler Propylalkohol, *Grübler*).

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	200 = 1,20 Proz.	100 = 0,60 Proz.	50 = 0,30 Proz.	25 = 0,15 Proz.	12,5 = 0,07 Proz.	6,25 = 0,03 Proz.
2	5,0	4,5	1,0	2,5	2,5	3,0	3,0	4,0
4	10,0	9,0	4,0	5,0	5,5	6,5	7,0	8,5
6	13,5	13,0	5,0	7,5	8,0	10,0	10,0	12,0

[1]) *W. Starlinger*, diese Zeitschr. **114**, 129, 1921.

Butylalkohol (normaler Butylalkohol, *Kahlbaum*).

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	50 = 0,37 Proz.	25 = 0,185 Proz.	12,5 = 0,092 Proz.	6,25 = 0,046 Proz.	3,125 = 0,023 Proz.	1,56 = 0,011 Proz.
2	8,5	8,5	6,5	6,0	6,5	7,5	8,0	8,5
4	14,0	14,0	11,0	10,0	10,5	12,0	13,0	13,5
6	21,0	21,0	16,5	16,0	16,0	18,5	19,5	20,0

Amylalkohol (normaler Amylalkohol, *Kahlbaum*).

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	12,5 = 0,11 Proz.	6,25 = 0,05 Proz.	3,125 = 0,025 Proz.	1,56 = 0,012 Proz.	0,78 = 0,006 Proz.	0,39 = 0,003 Proz.
2	4,0	4,0	2,5	3,0	3,0	3,0	4,0	4,0
4	8,0	8,0	6,0	6,0	6,0	7,0	7,5	8,0
6	11,0	10,5	8,0	8,0	8,0	9,0	10,0	10,0

Äthylurethan.

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	200 = 1,78 Proz.	100 = 0,89 Proz.	50 = 0,44 Proz.	25 = 0,22 Proz.	12,5 = 0,11 Proz.	6,25 = 0,05 Proz.
2	14,0	14,0	3,5	4,0	5,0	5,5	7,0	7,5
4	24,5	24,5	7,5	8,0	9,5	11,0	14,0	15,0
6	32,0	32,0	12,5	12,5	14,0	16,0	20,0	22,0

Chloralhydrat.

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	200 = 3,31 Proz.	100 = 1,65 Proz.	50 = 0,82 Proz.	25 = 0,41 Proz.	12,5 = 0,20 Proz.	6,25 = 0,10 Proz.
2	10,0	10,0	1,5[1])	20,0[2])	18,0	13,0	9,5	8,5
4	18,0	17,5	2,5	27,0	28,5	22,5	18,0	16,0
6	24,5	24,5	2,5	33,0	36,5	30,5	25,0	22,0

Chloroform, gesättigte Lösung in 0,9 proz. NaCl.

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	5,26 = 0,062 Proz.	2,6 = 0,031 Proz.	1,8 = 0,0155 Proz.	0,9 = 0,0077 Proz.	0,45 = 0,0038 Proz.	0,225 = 0,0019 Proz.
2	4,0	4,0	4,0	3,5	4,0	4,0	4,0	4,0
4	7,5	7,5	7,5[3])	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
6	9,5	9,5	9,5	8,5	8,5	8,5	8,5	9,5
24	22,0	22,0	27,5	23,5	21,5	22,0	22,0	22,0

Äther, gesättigte Lösung in 0,9 proz. NaCl.

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	76,9 = 0,55 Proz.	38,4 = 0,27 Proz.	19,2 = 0,13 Proz.	9,6 = 0,06 Proz.	4,8 = 0,03 Proz.	2,4 = 0,015 Proz.
2	4,5	5,0	7,0	5,5	5,0	5,0	5,0	5,0
4	10,0	10,0	14,5	12,0	10,5	11,0	10,0	10,5
6	14,5	14,0	19,5	16,0	14,0	15,0	14,0	14,5

[1]) Hämolyse. [2]) Geringe Hämolyse. [3]) Schwach hämolytisch.

Bei einer Betrachtung dieser Versuchsergebnisse fällt zunächst auf, daß die Kontrollwerte mit Zusatz von 0,9proz. Kochsalzlösung sich zwar im einzelnen Versuch wenig, bei den verschiedenen Versuchen aber immerhin erheblich unterscheiden. Sie schwanken z. B. nach 2 Stunden zwischen 14,0 und 4,0 mm, ein Verhalten, das darauf hinweist, daß ähnliche individuelle Unterschiede im Tierblut vorliegen, wie sie bei menschlichem Blute beobachtet wurden. Weiterhin ist festzustellen, daß eine deutliche Hemmung der Senkungsgeschwindigkeit bei sämtlichen Alkoholen und beim Äthylurethan vor allem in den höheren angewandten Konzentrationen eintritt, während im Gegensatz dazu durch Chloralhydrat und Äther eine Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit, und zwar *nur* in hohen Konzentrationen, verursacht wird. Chloroform hat in dieser Dosierung überhaupt keinen deutlichen Einfluß[1]). In weiteren Versuchen wurden nun auch höhere und niedrigere Konzentrationen der Narkotica untersucht.

Versuchsprotokolle II.

Äthylalkohol, geringere Konzentration.

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	6,25 = 0,025 Proz.	3,125 = 0,012 Proz.	1,56 = 0,006 Proz.	0,78 = 0,003 Proz.	0,39 = 0,0015 Proz.	0,195 = 0,0007 Proz.
2	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
4	9,0	9,0	9,0	8,0	9,0	9,0	9,0	9,5
6	12,5	13,0	12,5	12,5	13,0	13,0	13,0	14,0

Propylalkohol, geringere Konzentration — Äthylurethan, geringere Konzentration

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Propylalkohol: Kontrolle I	6,25 = 0,04 Proz.	3,125 = 0,02 Proz.	1,56 = 0,01 Proz.	Äthylurethan: Kontrolle II	6,25 = 0,055 Proz.	3,125 = 0,025 Proz.	1,56 = 0,012 Proz.
2	15,5	14,0	16,0	14,0	15,0	15,0	14,5	12,5
4	31,0	31,0	32,0	29,5	31,0	32,0	31,0	29,0
6	35,0	35,0	36,0	34,5	34,5	35,5	34,5	34,0

Chloralhydrat, geringere Konzentration.

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	Kontrolle II	3,125 = 0,05 Proz.	1,56 = 0,025 Proz.	0,78 = 0,0125 Proz.	0,39 = 0,0062 Proz.	0,195 = 0,0031 Proz.	0,097 = 0,0015 Proz.
2	13,5	12,0	13,0	12,0	11,0	10,5	11,0	10,0
4	22,0	22,5	22,5	21,0	21,0	21,0	20,5	20,0
6	30,0	29,0	30,0	29,5	29,0	28,5	29,0	28,0

[1]) Nach 24 Stunden ließ sich in dem oben angeführten Versuch eine stärkere Senkung bei Zusatz gesättigter Chloroformlösung beobachten, doch kann das nach so langer Zeit auf sekundären Veränderungen beruhen.

Methylalkohol, höhere Konzentration.

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle I	800 = 2,56 Proz.	400 = 1,28 Proz.	200 = 0,64 Proz.
2	2,0	—	1,0	1,5
4	4,0	1,0	2,5	3,0
6	5,5	1,5	3,0	4,0

Äthylalkohol, höhere Konzentration.

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Kontrolle II	800 = 3,68 Proz.	400 = 1,84 Proz.	200 = 0,92 Proz.
2	2,0	—	—	1,0
4	4,5	—	1,5	2,0
6	5,5	—	2,0	3,0

Alkohole und Äthylurethan in höherer Konzentration.

Konzentration in Mill. Mol. Senkung nach Stunden	Methylalkohol 2000 = 6,2 Proz.	Methylalkohol 1500 = 4,8 Proz.	Methylalkohol 1000 = 3,2 Proz.	Äthylalkohol 2000 = 9,2 Proz.	Äthylalkohol 1500 = 6,9 Proz.	Äthylalkohol 1000 = 4,6 Proz.	Propylalkohol 600 = 3,6 Proz.	Propylalkohol 400 = 2,4 Proz.	Äthylurethan 400 = 3,56 Proz.	Kontrolle I	Kontrolle II
2	—	1,0	1,5	Hämolyse	< 1[1]	1,0	2,0 Hämolyse	2,0[1]	2,5 Hämolyse	4,0	4,5
4	1,0	2,0	2,5	< 1	2,0	1,5	3,0	3,0	4,5	7,0	7,0
6	1,5	2,5	4,0	1,5	2,5	3,0	4,5	4,5	7,0	9,5	9,5

Man sieht, daß Alkohole in geringer Konzentration die Senkungsgeschwindigkeit unbeeinflußt lassen, die geringen Veränderungen liegen innerhalb der Fehlergrenzen. Weiterhin wird durch Chloralhydrat in geringerer Konzentration keine Hemmung verursacht. Andererseits sehen wir bei Steigerung der Alkoholkonzentration nur eine weitere Zunahme der Hemmung bis zum Eintritt der Hämolyse. Bei den Alkoholen und dem Urethan wird dann zum Teil die Hemmung der Senkungsgeschwindigkeit geringer, während bei Chloralhydrat eine stärkere Hemmung auftritt.

In einigen Versuchen wurden auch die gewaschenen Blutkörperchen in Serum aufgeschwemmt und die Senkungsgeschwindigkeit unter den verschiedenen Zusätzen untersucht. Das Ergebnis war das gleiche wie beim Blutplasma, wenn auch die Schwankungen geringer waren. Um nun einen ungefähren Vergleich sämtlicher erhaltener Werte zu ermöglichen, wurde in der folgenden Tabelle der jedesmal für Citratblut + 0,9proz. Kochsalzlösung erhaltene Wert gleich 100 gesetzt und darauf die übrigen Werte bezogen.

[1]) Beginnende Hämolyse.

Tabelle. Senkungsgeschwindigkeit nach 4 Stunden in Prozenten der Kontrolle.

Konzentration in Mill. Mol.	2000	1500	1000	800	600	400	200	100	50
Methylalkohol . .	14,2	28,5	35,7	23,5	—	58,8	63,0	78,9	84,2
Äthylalkohol . .	0,0[1]	20,5[2]	21,4	0,0	—	35,2	53,3	53,3	66,6
Propylalkohol . .	—	—	—	—	42,8[1]	42,8[2]	42,1	52,6	57,8
Butylalkohol . .	—	—	—	—	—	—	—	—	78,5
Amylalkohol . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Äthylurethan . .	—	—	—	—	—	64,2[1]	30,6	32,2	38,7
Chloralhydrat . .	—	—	—	—	—	—	13,8	150,0	158,3

Konzentration in Mill. Mol.	25	12,5	6,25	3,125	1,56	0,78	0,39	0,195
Methylalkohol . .	84,2	105,2	100,0	—	—	—	—	—
Äthylalkohol . . .	80,0	86,6	86,6	100,0	100,0	100,0	100,0	105,0
Propylalkohol . .	68,4	73,6	89,4	100,0	103,2	—	—	—
Butylalkohol . . .	71,4	75,0	85,7	92,8	96,4	—	—	—
Amylalkohol . . .	—	75,0	75,0	75,0	87,5	93,7	100,0	—
Äthylurethan . .	44,8	57,1	61,2	100,0	—	—	—	—
Chloralhydrat . .	125,0	100,0	94,4	100,0	93,5	93,5	93,5	91,3

Konzentration in Mill. Mol.	76,9	38,4	19,2	9,6	4,8	2,4
Äther	145,0	120,0	105,0	110,0	100,0	105,0

Wir können aus dieser Zusammenstellung sehen, daß ohne Zweifel eine gewisse Zunahme der Hemmung mit steigender Zahl der C-Atome bei den Alkoholen vor hämolytischen Konzentrationen festzustellen ist, zumindest bei den drei ersten Alkoholen. Butylalkohol und Amylalkohol verursachen keine wesentliche größere Zunahme (Butylalkohol macht auch bei *Runnströms* Versuchen eine Ausnahme).

Dieser ganze Vergleich ist aber nur sehr bedingt zu verwerten, da wir in verschiedenen gleichartig angestellten Versuchen zum Teil recht ungleichartige prozentuale Werte (Kontrolle = 100) erhielten. So wurde z. B. für eine Propylalkoholkonzentration von 6,25 Mill. Mol. an Stelle von 89,4 Proz. der oben angeführten Tabelle in einem anderen Versuch 100 Proz. erhalten. Es wurde versucht, diese Schwierigkeit dadurch zu umgehen, daß ein gleich molarer Zusatz der verschiedenen Narkotica bei demselben Blute angewandt wurde. Das Ergebnis zeigt auch eine Steigerung der Hemmung mit Zunahme der C-Atome.

Versuchsprotokoll III. Vergleich der Narkoticumwirkung in gleicher molarer Konzentration, 12,5 Mill. Mol.

Senkung nach Stunden	Methylalkohol	Äthylalkohol	Propylalkohol	Butylalkohol	Amylalkohol	Äthylurethan	Chloralhydrat
2	111,1	77,7	60,0	76,4	62,5	50,0	95,0
4	105,2	86,6	73,6	75,0	75,0	57,1	100,0
6	103,8	85,0	74,0	76,1	72,7	62,5	102,0

[1]) Hämolyse. — [2]) Beginnende Hämolyse.

Weiter haben wir versucht, die wesentliche Unbekannte in diesem Versuche, das Plasma, durch eine immer homogene kolloide Lösung zu ersetzen.

Wir benutzten dazu die von *Atzler* und *Lehmann*[1]) angegebene kolloid-isosmotische Gummiarabikumlösung, die durch passenden Natrium-bicarbonatzusatz auf ein konstantes p_H eingestellt werden kann. Das Resultat dieser Versuche war aber unbefriedigend, vielleicht weil es nicht möglich ist, eine ganz gleichmäßige Blutkörperchenaufschwemmung herzustellen und infolgedessen die Verschiedenheit der Blutkörperchen, auf die *Abderhalden*[2]) hingewiesen hat, hier die Versuchsergebnisse stört. Es sei aber erwähnt, daß einerseits bei Alkoholen eine deutliche Hemmung der Senkungsgeschwindigkeit, andererseits bei Chloralhydrat eine Förderung derselben auch hier zu beobachten war, was immerhin insofern interessant ist, als damit gezeigt wird, daß es sich um keine spezifische Reaktion des Blutplasmas oder Serums handelt, sondern daß wir es wohl mit einer allgemeinen kolloidchemischen Reaktion zu tun haben, wenn wir dabei die Beeinflussung der roten Blutkörperchen außer acht lassen.

Versucht man nun, die erhaltenen Ergebnisse in eine Beziehung zu der sonstigen Wirkung der Narkotica zu bringen, so zeigt sich dabei folgendes: Zunächst ist festzustellen, daß die beobachtete Senkungshemmung durch Alkohol und Urethan bereits bei einer Konzentration beginnt, die bei den untersuchten Stoffen wesentlich unter der Konzentration liegt, die z. B. für den isolierten Muskel als narkotische Grenzkonzentration anzusehen ist. Diese liegt für Äthylalkohol etwa bei 1000 Mill. Mol., während wir bei 200 Mill. Mol. bereits eine sehr erhebliche Senkungshemmung beobachteten. Andererseits zeigt sich, daß die narkotische Grenzkonzentration beim Chloralhydrat, ungefähr 4,1 Mill. Mol., vor dem Punkte erreicht wird, wo eine Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit beginnt. Bei den Alkoholen sehen wir dann bei weiterer Konzentrationssteigerung ein Maximum der Hemmung eintreten, je mehr wir uns der narkotischen Grenzkonzentration nähern. Wir nähern uns dabei aber auch mehr und mehr der hämolytischen Grenzkonzentration, bei der, wie aus den Chloralhydratversuchen hervorgeht, schon durch die Hämolyse als solche und wohl auch durch Vorstufen derselben Senkungshemmung eintritt. Es ist denkbar, daß bei den Alkoholen einer Senkungsbeschleunigung, die vielleicht oberhalb der narkotischen Konzentration eintreten würde, die Hämolyse entgegenwirkt, so daß sich durch ein Überwiegen derselben eine Senkungshemmung ergibt. Doch ist es auch möglich, daß hier gänzlich andere Mechanismen eine Rolle spielen, die wir bisher noch nicht überschauen können. Infolgedessen können wir auch nicht mit *Runnström* (l. c.) annehmen, daß die Senkungshemmung durch eine Dehydratation der Plasmakolloide verursacht wird. Ja gerade die Tatsache, daß wir

[1]) *G. Lehmann*, Deutsch. med. Wochenschr. **49**, 874, 1923.
[2]) *E. Abderhalden*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **198**, 236, 1922.

unter Chloralhydratzusatz in narkotisch wirksamen Konzentrationen eine Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit feststellen können, muß zu der Ansicht führen, daß eine Dehydratation der Plasmakolloide vielleicht mit Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit verbunden ist. Es muß jedoch zugegeben werden, daß mit dieser Auffassung nicht in Einklang zu bringen ist, daß Äther bereits in narkotisch unwirksamen Konzentrationen eine Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit verursacht. Ferner ist es auffallend, daß wir bei Chloralhydratzusatz in geringerer Konzentration keine Senkungshemmung feststellen können.

Um nun weiterhin diese Verhältnisse zu prüfen, und um überhaupt eine Erklärung für die Senkungshemmung einerseits, die Beschleunigung andererseits zu finden, wurden verschiedene Untersuchungen angestellt, die im folgenden kurz skizziert seien. *Linzenmeier* (l. c.) nahm auf Grund der *Höber*schen Theorie an, daß die Narkotica deswegen eine Hemmung der Senkungsgeschwindigkeit verursachten, weil sie infolge ihrer starken Oberflächenaktivität die entladend wirksamen Stoffe von der Oberfläche der roten Blutkörperchen verdrängen. Dadurch sollte Ladung und Suspensionsstabilität derselben unbeeinflußt bleiben. *Runnström* (l. c.) macht gegen diese Auffassung geltend, daß man eine Verdrängung von Kolloiden durch Alkohol sonst nicht beobachten kann, da z. B. Pferdeserum als Schutzkolloid für Kaolin in dieser Wirkung durch Alkoholzusatz nicht geschwächt, sondern verstärkt würde. Wir haben diese Frage experimentell zu entscheiden versucht. Nach der Auffassung *Linzenmeiers* hätte man in kataphoretischen Versuchen für die roten Blutkörperchen unter Alkoholzusatz eine höhere negative Ladung finden müssen, als ohne Alkohol — mit anderen Worten, es wäre zur Entladung und Umkehr der Ladung der roten Blutkörperchen in der Kataphoresekammer eine größere Menge positiver Ionen notwendig gewesen. Um das festzustellen, gingen wir in der Weise vor, daß wir nach einer von *Gabbe*[1]) beschriebenen Versuchsanordnung Blutkörperchen + Plasma[2]) in isotonischer Rohrzuckerlösung aufschwemmten und mit Citratsalzsäuregemischen verschiedener H-Ionenkonzentration versetzten. Die Wanderungsrichtung wurde in der von *Michaelis*[3]) angegebenen mikroskopischen Kataphoresekammer beobachtet. Die Umladung der roten Blutkörperchen erfolgt hierbei durch H-Ionen.

Dabei ergab sich, daß weder Alkohol noch auch Chloralhydratzusatz, von geringen Unterschieden in einzelnen Versuchen abgesehen,

---

[1]) *E. Gabbe*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **39**, 276, 1924.

[2]) Mit und ohne Alkoholzusatz entsprechend den Senkungsversuchen.

[3]) *L. Michaelis*, Prakt. d. phys. Chem., 2. Aufl., S. 117. Berlin, Julius Springer.

eine größere H-Ionenkonzentration zur Umladung notwendig machten. Diese erfolgte sowohl bei der Kontrolle als auch bei den verschiedenen Zusätzen immer bei gleicher Mischungszahl bzw. gleichem p_H (4,62 bis 4,21 elektrom. in verschiedenen Versuchen). Wenn auch die Verdünnung des dabei gebrauchten Citratblutes sehr erheblich ist (0,05 : 5,0 bis 10,0 Rohrzuckerlösung), so wurden doch von *Gabbe* (l. c.) mit dieser Versuchsanordnung Unterschiede erzielt, die bis zu einem gewissen Grade dem Verhalten der Senkungsgeschwindigkeit parallel gingen.

Aus diesen Untersuchungen ergab sich demnach, daß die Vermutung *Linzenmeiers* wahrscheinlich nicht zutrifft. *Runnström* (l. c.) hat dann weiter, wie schon erwähnt, eine Zustandsänderung der Plasmakolloide, und zwar eine Dehydratation derselben zur Erklärung der Senkungshemmung herangezogen. Dieser Anschauung sind nun außer den schon oben geäußerten Bedenken auch neuere Versuchsergebnisse über die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit entgegenzustellen, nach denen gerade Dehydratation, Übergang der Plasmakolloide in den Gelzustand [*Wöhlisch* und *Bohnen*[1])], ferner leichtere Fällbarkeit des Fibrinogens und der Globulinfraktion [*Sachs*[2]), *v. Oettingen*[3]), *Starlinger*[4])] eine Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit verursachen. Da bis zu einem gewissen Grade die Viskosität eines hydrophilen Kolloids von einem verschiedenen Hydratationsgrad abhängig ist [*Luers* und *Schneider*[5])], glaubten wir diese Fragen durch Viskositätsmessungen klären zu können.

Citratblut vom Schwein wurde in der üblichen Weise gewonnen, gut zentrifugiert und jedesmal 5 ccm Plasma mit 1 ccm Alkohol bzw. 0,9proz. Kochsalzlösung versetzt, was ungefähr der Konzentration in den Senkungsversuchen entspricht. Von dieser Mischung wurden 5 ccm zur Viskositätsbestimmung, die im *Ostwald*schen Viskosimeter im Wasserbade bei konstanter Temperatur (25° C) vorgenommen wurde, verwandt.

Die Viskosität von 5 ccm Plasma + 1 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung war natürlich auch hier analog den Ergebnissen bei den Senkungsversuchen in den einzelnen Versuchen verschieden, so daß ein Vergleich nur möglich war, wenn die für Plasma + 0,9proz. Kochsalzlösung erhaltene Viskosität gleich 1 gesetzt und darauf alle anderen Werte bezogen wurden.

---

[1]) *E. Wöhlisch* und *P. Bohnen*, Klin. Wochenschr. **3**, 472, 1924.

[2]) *H. Sachs* und *v. Oettingen*, Münch. med. Wochenschr. 1921, S. 12.

[3]) *K. v. Oettingen*, diese Zeitschr. **118**, 67, 1921.

[4]) *W. Starlinger*, ebendaselbst **114**, 129, 1921; **122**, 105, 1921; **123**, 215, 1921.

[5]) *Luers* und *Schneider*, Kolloidzeitschr. **28**, 4, 1921; zitiert nach *H. Handovsky*, Leitfaden d. Kolloidchem. 1922, S. 179, 180. Dresden und Leipzig, Theod. Steinkopf.

Viskositätsbestimmungen, bezogen auf Plasma + 0,9proz. Kochsalzlösung = 1,000.

Konzentration in Mill. Mol.	Methyl-alkohol	Äthyl-alkohol	Propyl-alkohol	Butyl-alkohol	Amyl-alkohol	Chloral-hydrat	Äthyl-urethan
333	1,024	1,058	1,088			Fällung	1,081
166	1,024	1,088	1,048			1,048	1,005
83	1,002	1,011	1,021	1,024		1,022	0,985
41	0,997	0,991	1,013	1,013		1,017	0,983
20,5	0,994	0,997	0,997	1,000	0,989	1,002	0,987
10	1,002	0,988	0,989	0,997	1,000	1,000	0,971
5	0,997	0,994	1,005	0,989	0,997	1,005	0,991
2,5	0,997	0,991	1,000	1,000	0,994	0,997	0,977
1,25	1,000	0,974	0,997	0,986	0,991	1,000	0,977
0,625	1,002	0,994	0,986	1,002	1,000	0,997	0,977

Diese Aufstellung zeigt, daß nur in den höheren Konzentrationen fast sämtlicher gebrauchter Narkotica eine Zunahme der Viskosität eintritt. Als Fehlergrenze ist etwa $\pm 0{,}0020$ anzunehmen. Die Verminderung der Viskosität, die beim Äthylurethan auftritt, ist wohl nicht als gesetzmäßig anzusehen, so daß ihr kein besonderer Wert beizumessen ist.

Diese Untersuchungen enttäuschen zunächst. Wir können aus ihnen keinerlei Parallelismus mit den Veränderungen der Senkungsgeschwindigkeit ersehen. Bei einem Vergleich der Konzentrationen dieser Versuche mit den Konzentrationen in den Senkungsversuchen, bei denen sich einerseits Hemmung, andererseits Beschleunigung ergibt (Chloralhydrat), finden wir, daß sowohl Hemmung wie Beschleunigung mit Viskositätszunahme einhergeht. Dieser Befund zeigt deutlich, daß die Viskositätserhöhung als solche nicht unbedingt einem fördernden Einfluß auf die Senkungsgeschwindigkeit entspricht[1]). Um eine Erklärung für diese Verhältnisse zu finden, muß man jedoch bedenken, daß die innere Reibung durchaus eine Größe ist, die von den verschiedensten Faktoren abhängig ist (Größe und Zahl der kolloiden Teilchen, Art derselben, Hydratationsgrad usw.), so daß die verschiedensten Veränderungen der dispersen Phase, die sich ja aus den verschiedensten Stoffen (Lipoiden und Eiweißkörpern) zusammensetzt, durch die gebrauchten Substanzen eine Veränderung der Viskosität zur Folge haben kann. Es braucht infolgedessen keineswegs derselbe Vorgang zu sein, der in allen diesen Fällen eine Erhöhung der inneren Reibung hervorgerufen hat. In dieser Ansicht wurden wir bestärkt, als wir die Viskositätsbestimmungen auch auf höhere Konzentrationen bis zur Fällungsgrenze der Narkotica ausdehnten. Dabei zeigte sich nämlich ein deutlich verschiedenes Verhalten der gebrauchten Narkotica,

[1]) Sie ist wohl nur dann von Einfluß, wenn sie durch eine Vermehrung der Globulinfraktion bedingt ist.

während z. B. für Äthylalkohol, wie nachfolgende Tabelle zeigt, eine sehr hohe Steigerung der Viskosität erreicht werden kann, bevor es zur Fällung kommt, war das bei Chloralhydrat nicht möglich. Dies verursacht, wie schon aus der oben stehenden Tabelle hervorgeht, bereits bei einer Konzentration von 333 Mill. Mol. eine Fällung. In Wirklichkeit liegt die Flockungsgrenze schon bei 200 Mill. Mol. Zum Vergleich ist noch einmal die Viskosität bei einer Konzentration von 33 bis 200 Mill. Mol. für Chloralhydrat festgestellt und hier angeführt.

Äthylalkohol, Viskositätsbestimmungen, bezogen auf Plasma + 0,9 proz. Kochsalzlösung = 1,00.

Konzentration in Mill. Mol.	666	1000	1333	1666	2000	2333	2666	3000
Viskosität	1,081	1,149	1,228	1,280	1,340	1,446	1,564	1,602[1])

Chloralhydrat. Viskositätsbestimmung.

Konzentration in Mill. Mol.	33	66	100	133	166	200
Viskosität	0,994	1,013	1,022	1,039	1,039	Flockung

Der Unterschied ist deutlich, während wir bei Alkoholzusatz eine Steigerung der Viskosität bis 1,6 erhalten, ohne daß eine Flockung eintritt, kommt es beim Chloralhydratzusatz nur bis zu einer Viskosität von 1,04 kurz vor der Fällung. Man hat danach durchaus den Eindruck, daß bei den Alkoholen im Gegensatz zum Chloralhydrat, der Ausfällung, die natürlich mit höherer Konzentration eintritt, zunächst ein stabilisierender Faktor entgegenwirkt, durch den direkt oder indirekt die außerordentliche Zunahme der Viskosität möglich ist. Daß in der Tat ein solches stabilisierendes Moment vorhanden ist, konnten wir noch durch andere Versuche belegen.

v. Oettingen (l. c.), weiterhin *Starlinger* (l. c.) konnten zeigen, daß ein Parallelismus zwischen mehr oder weniger großer Senkungsgeschwindigkeit und verschiedenen Flockungsreaktionen des Plasmas besteht. Bei beschleunigter Senkungsgeschwindigkeit war auch die Flockung des Plasmas z. B. mit gesättigter NaCl-Lösung oder Ammonsulfatlösung größer. Nach *Starlinger* änderte sich das Flockungsvermögen im Sinne einer Verminderung auch nach Zusatz von Neutralsalzen oder nach Erhöhung der Temperatur, Faktoren, die auch eine Verminderung der Senkungsgeschwindigkeit verursachen. Es lag nahe, diese Verhältnisse nach Alkohol- bzw. Chloralhydratzusatz zu prüfen. Dabei wurde so vorgegangen, daß 2 ccm Plasma mit 1 ccm 0,9 proz.

[1]) Nach 1 bis 2 Stunden Flockung.

Kochsalzlösung + Alkohol versetzt wurde und dann nach dem Beispiel *Starlingers* durch Zufügen einer gleichen Menge gesättigter Kochsalzlösung (3 ccm) Fällung hervorgerufen wurde. Die Ablesung des Ergebnisses wurde gleichmäßig nach 5 bis 10 Minuten vorgenommen.

Äthylalkohol.

Konzentration in Mill. Mol.	—	166	323	498	664	833	999	1166,2	1332	1499	1666
Gesättigte Kochsalzlösung .	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Plasma	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Grad der Flockung	+	+	+	±	—	—	—	—	—	+	+

Chloralhydrat[1]).

Konzentration in Mill. Mol.	—	8,33	16,66	24,99	33,32	41,65	49,98	58,31	66,64	74,97
Grad der Flockung .	+	++	++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++

Äther.

Konzentration in Mill. Mol.	—	25,6	51,2	76,8	102,4	128,1
Grad der Flockung	+	+	+	+	+	+

Propylalkohol.

Konzentration in Mill. Mol.	—	66,6	133,2	199,8	266,4	333
Grad der Flockung	+	±	±	±	+	+

± = Trübung.

Methylalkohol.

Konzentration in Mill. Mol.	—	1100	2200	3300	4400	5500
Grad der Flockung	+	+	±	—	—	—

Äthylurethan.

Konzentration in Mill. Mol.	—	133	266	399	565	669
Grad der Flockung	+	±	±	±	—[2])	+

Wie deutlich sichtbar ist, zeigt sich zum Teil ein verschiedener Ausflockungsvorgang. Dies ist besonders deutlich, wenn man Äthylalkohol und Chloralhydrat vergleicht. Bei Zusatz von Äthylalkohol in ziemlich hoher Konzentration sehen wir zunächst in den ersten Röhrchen eine allmähliche Abnahme der Ausflockung, während in

[1]) Plasma und gesättigte NaCl-Lösung wie oben.
[2]) Trübt sich allmählich.

den nächsten gar keine Fällung zustande kommt, und erst bei höherer Konzentration zeigt sich dann wieder verstärkte Flockung, die der Kontrolle gleichkommt. Im Gegensatz dazu zeigt sich bei Chloralhydratzusatz von vornherein eine mehr und mehr zunehmende Ausfällung, die immer stärker ist als die Flockung der Kontrolle. Zusatz von Äther läßt eine Veränderung der Fällung nicht auftreten. Wie die Versuche zeigen, verhalten sich Methylalkohol, Propylalkohol und Äthylurethan ähnlich dem Äthylalkohol. Hier wirkt überall der Ausflockung ein stabilisierendes Moment entgegen; bei Methylalkohol zeigt sich auffallenderweise die Stabilisierung noch in sehr hohen Konzentrationen[1]. Die Narkoticumkonzentrationen, die in diesen Versuchen eine Verminderung oder Aufhebung der Flockung bedingen, stimmen zum Teil mit denen überein, die Senkungshemmung verursachten, zum Teil liegen sie aber wesentlich höher. Es ist vielleicht anzunehmen, daß der deutlichen Stabilisierung ein Zustand vorausgeht, bei dem wir zwar in dem groben Flockungsversuch noch keine fällungshemmende Wirkung beobachten, der aber in den Blutkörperchensenkungsversuchen durch eine deutliche Verminderung der Senkungsgeschwindigkeit charakterisiert ist. Anders beim Chloralhydrat, wo wir eine solche Verminderung oder Aufhebung der Fällung nicht beobachten, sondern gerade eine stärkere Flockung zustande kommen sehen.

Wir kommen also nach diesen Untersuchungen zu der Auffassung, daß die Hemmung der Senkungsgeschwindigkeit durch Alkohole und Äthylurethan wahrscheinlich mit einer größeren Stabilisierung der Globulinfraktion, die bei Chloralhydrat beobachtete Förderung aber mit ihrer leichteren Ausflockbarkeit in Zusammenhang zu bringen ist. Ob dabei auch quantitative Veränderungen stabiler bzw. labiler Fraktionen des Plasmas eintreten, lassen wir unentschieden. Nach den Untersuchungen von *Rusznyak*[2]) erscheint es wahrscheinlich, daß gerade unter dem Einfluß von Chloralhydrat eine Umwandlung von Albumin in Globulin eintritt, was im besten Einklang mit den hier erhaltenen Ergebnissen steht.

Zusammenfassung.

1. Die fünf ersten Alkohole sowie Äthylurethan verursachen in Citratblut eine Hemmung, Chloralhydrat und Äther eine Beschleunigung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit. Dabei erweist sich im

---

[1]) Es sei kurz bemerkt, daß diese Befunde, in gewissem Gegensatz zu den Versuchsergebnissen stehen, die *Freundlich* und *Rona* (diese Zeitschr. **81**, 87, 1917) bei der Beeinflussung von *Suspensionskolloiden* durch Nichtelektrolyte, z. B. auch Äthylurethan und Amylalkohol, erhielten. Sie fanden, gerade unter dem Einfluß von kapillaraktiven Nichtelektrolyten eine Sensibilisierung für die Ausflockung.

[2]) *St. Rusznyak*, diese Zeitschr. **140**, 179, 1923.

allgemeinen der nächst höhere Alkohol wirksamer als das vorangehende Glied der homologen Reihe.

2. Bei einem Vergleich der Konzentrationen, die gerade Hemmung verursachen, mit den narkotischen Grenzkonzentrationen für den isolierten Muskel zeigt sich, daß eine Hemmung der Senkungsgeschwindigkeit bereits in viel niedrigeren Konzentrationen beginnt, als der narkotischen Grenzkonzentration entspricht. Die Hemmung wird dann mit Zunahme der Alkoholkonzentration immer größer, um ein Maximum ungefähr in narkotisch wirkender Konzentration zu erreichen.

3. Andererseits ist bei Chloralhydratzusatz immer auch in narkotisch wirksamen Konzentrationen eine Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit festzustellen.

4. Es wird angenommen, daß diese Beschleunigung in narkotisch wirksamen Konzentrationen bei den Alkoholen infolge eintretender Hämolyse, die an und für sich eine Hemmung der Senkungsgeschwindigkeit verursacht, nicht zustande kommen kann.

5. Wie aus Viskositätsmessungen und Flockungsversuchen hervorgeht, ist eine Erklärung der Senkungshemmung durch Alkohole und Urethan darin zu suchen, daß diese auf Plasma in bestimmter Konzentration stabilisierend, die Ausflockung hemmend, wirken, während die Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit durch Chloralhydrat und Äther auf einer leichteren Ausflockbarkeit desselben beruht.

Gibt es spezifische Abwehrfermente?

Von

Mark Serejski.

(Aus dem biochemischen Institut des Kommissariats für Volksgesundheit in Moskau.)

(Eingegangen am 24. August 1924.)

I. Einleitung.

Die Lehre von der *Abderhalden*schen Reaktion besteht bereits seit über 10 Jahren, und doch ist sie bei weitem nicht allgemein anerkannt. Nachdem von *Oppler*[1]) die völlige Unzulänglichkeit des Dialysierverfahrens klargelegt worden war, traten *Pregl* und *Crinis*[2]) mit einer neuen, „Mikro-Abderhaldenreaktion" genannten Methodik hervor. Letztere ist im Gegensatz zu der ursprünglichen so einfach, so präzise, die von diesen Autoren erhaltenen praktischen Ergebnisse sind so eindeutig, daß der Eindruck sich aufdrängt, als ob wir der Anerkennung der Richtigkeit der *Abderhalden*schen Ideen nahegekommen seien. Die Zahl der mit dieser Methode ausgeführten Arbeiten ist allerdings nicht groß. In der ersten dieser Arbeiten beschäftigen sich *Crinis* und *Mahnert*[2]) mit der Serodiagnostik des Krebses, wobei sie als Antigen das Uteruscarcinom benutzten. Es erwies sich, daß das Serum der Krebskranken, abgesehen davon, welche Organe vom Carcinom befallen sind, auch abgesehen von der Art des Carcinoms, mit dem genannten Antigen stets eine positive Reaktion gab. Mit normalem Serum und demselben Antigen wurden stets negative Resultate erhalten. Diese Befunde stehen in vollständigem Widerspruch zu den Angaben *Meyers*[3]), welcher bei der Benutzung der Mikromethode mit einem aus einer Mischung verschiedener Krebsgeschwulste bestehenden Antigen für das Serum der an verschiedenen Krebsarten Erkrankten (Plattenepithelkrebs, Cylinderepithelkrebs und andere) nur negative Resultate erzielen konnte. *Meyer* äußert die Vermutung, daß in der Mischung der Substrate das zum Abbau nötige, dem Serum entsprechende Krebsgewebe quantitativ zu gering sei oder überhaupt fehle. Dennoch erachtete er gerade diese negativen Resultate, die er

[1]) Diese Zeitschr. **75**, 1916.
[2]) Fermentforschung **1**, 1919.
[3]) Diese Zeitschr. **114**, 1921.

selber als für ihn „eigentlich überraschend und enttäuschend“ erklärte, für eine volle Bestätigung der *Abderhalden*schen Meinung über die spezifische Wirkung des Krebskrankenserums, nämlich daß das Serum der an Plattenepithelkrebs Erkrankten nur auf das Plattenepithelantigen und nicht auf Cylinderepithelantigen usw. wirke, eine Denkungsweise, die keinesfalls auf Erfahrungen beruht. Im Jahre 1922 erschien eine ausschließlich mit psychiatrischem Material ausgeführte Arbeit *Glöcklers*[1]). Es werden bloß fünf Fälle von „Gesunden“ angeführt, und auch unter ihnen gab einer positive Resultate mit Ovarium. Auf Grund eines so wenig durchsichtigen Materials, wie Geisteskranke es bieten, hielt der Verfasser es jedoch für denkbar, sich zugunsten der *Abderhalden*schen Theorie und speziell der Mikromethode auszusprechen. Abgesehen von einer flüchtigen Bemerkung über Ausbleiben befriedigender Resultate bei Benutzung der refraktometrischen Methode in der Arbeit *Hormaeches*[2]) (aus dem Laboratorium *Pincussens*) ist die Literatur des Gegenstandes somit erschöpft.

Unseres Erachtens sind die genannten Arbeiten nicht mit der von der Enzymologie geforderten Genauigkeit ausgeführt worden. Es fehlen nämlich Kontrolle mit Serum allein und mit inaktiviertem Serum bei *Crinis* und *Glöckler*, Kontrolle mit inaktiviertem Serum bei *Meyer*. Da diese wenigen Arbeiten in ihren Schlüssen Widersprüche enthalten (*Meyer* erwähnt nicht ohne Ironie „blendend eindeutige Ergebnisse“ von *Crinis* und *Mahnert*), da weiter das von den Forschern benutzte Material entweder quantitativ nicht hinreichend oder zur Beurteilung der *Abderhalden*schen Reaktion ungeeignet war, versuchten wir unsererseits die neue Mikromethode für die Schwangerschaftsdiagnostik, diese nach *Abderhalden* und anderen zuverlässigste Reaktion, anzuwenden. Die Versuche wurden an 33 Schwangeren und 33 Nichtschwangeren vorgenommen. In jedem Falle wurden Versuche mit „aktivem Serum + Organ“, „aktivem Serum“, „inaktivem Serum“ und „inaktivem Serum + Organ“ ausgeführt. In einigen Versuchen wurden gleichzeitig zwei Proben mit ein und demselben Material angestellt. In der vorliegenden Arbeit sind hauptsächlich Versuche an Gesunden (Schwangeren und Nichtschwangeren) und nur einige pathologische Fälle besprochen. Das rein pathologische, meist endokrine Material behalten wir für eine spezielle Abhandlung vor.

II. Methodik.

Unsere Versuche wurden nach zwei Methoden: der refraktometrischen und einer rein chemischen, weiter unten zu besprechenden,

---

[1]) Fermentforschung **6**, Nr. 2. 1922.
[2]) Diese Zeitschr. **144**, 1924.

ausgeführt. Das steril entnommene Blut wurde zur Gewinnung des Serums eine Stunde bei 37° in den Thermostaten gestellt, sodann bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Das gewonnene Serum wurde abgesaugt, abzentrifugiert, aufs neue abgesaugt und in zwei Portionen geteilt: etwa 2 bis 3 ccm für die Refraktometrie, etwa 6 bis 7 ccm für die chemische Bestimmung. Die Hälfte des für Refraktometrie bestimmten Serums wurde während einer halben Stunde bei 58° inaktiviert. Die Organe wurden nach der *Pregl*schen Trockenmethode hergestellt. Für die refraktometrischen Versuche nahmen wir genau 0,01 g des betreffenden Trockenorgans. Zur Aufquellung wurde das Substrat eine kurze Zeit mit mehrfacher Menge physiologischer Kochsalzlösung in kleinen sterilen, mit Gummipfropfen versehenen Reagenzgläsern gekocht und darauf eine Stunde lang stehengelassen. Die Erfahrung zeigte, daß vorausgehendes kurzes Kochen die Sterilität bedeutend erhöht. Nach Ablauf einer Stunde wurde die Kochsalzlösung mittels Glaskapillaren und dünner Streifen Filtrierpapiers sorgfältig abgesaugt. Danach werden in eines der das Substrat enthaltenden Reagenzgläser 10 Tropfen aktives Serum, in das andere ebensoviel inaktives Serum gegeben, die Proben nach 10 Minuten durchgeschüttelt, während 5 Minuten mittels Handzentrifuge zentrifugiert und aus dem klaren Serum je ein mittelgroßer Tropfen auf das Hilfsprisma des *Pulfrich*schen Refraktometers zur Bestimmung der Brechungsindizes gebracht. Die Temperatur des Wasserbades war 17,5°. Vor dem Ablesen wurde der Tropfen im Refraktometer 5 Minuten belassen, um die Temperatur des Bades zu erreichen, sonst ist bei wechselnder Temperatur die Grenze an der Refraktometerskala verschwommen. Um eine klare Grenze zu bekommen, sind chylöse Sera sowie Sera, die Substratteilchen enthalten (was mit dem Hilfsokular nachzuprüfen ist) zu vermeiden. Bei hellen Grenzen gaben zwei Tropfen desselben Systems stets gleiche Brechungswerte. Diese Bestimmung wiederholten wir stets mindestens zweimal hintereinander. Darauf wurden die Versuchsgläschen mit Organ + Serum (aktivem und inaktivem) sowie die Kontrollen mit aktivem und inaktivem Serum nach Bestimmung der anfänglichen Brechungsindizes für 16 Stunden in den Thermostaten bei 34 bis 35° gestellt, dann tüchtig geschüttelt, 5 Minuten zentrifugiert und aufs neue die Brechungswerte bestimmt. Nach der Differenz (Diff.) zwischen diesen Werten vor (Sk_1) und nach Bebrütung (Sk_2) konnte auf das Resultat der Reaktion geschlossen werden.

Die von uns angewandte chemische Methode ist von *A. Bach*[1]) zur Bestimmung von Proteinabbauprodukten vorgeschlagen worden, sie beruht auf der Eigenschaft des reduzierenden Milchferments (*Schar-*

---

[1]) C. r. de l'Acad. des Scienc. 1917.

III.

Tabelle I

Nr.	Alter	Schwanger Monat	*Refraktometrische*								
			Serum + Placenta (aktiv)			*Serum + Placenta* (inaktiv)			*Serum allein* (aktiv)		
			Sk_1	Sk_2	Diff.	Sk_1	Sk_2	Diff.	Sk_1	Sk_2	Diff.
1	28	1	56,5	57,2	0,7	57,0	57,5	0,5	58,0	58,0	0
2	24	2	58,2	59,4	1,2	56,0	56,9	0,9	62,0	62,5	0
3	22	2	59,8	60,4	0,6	60,0	60,7	0,7	59,8	60,0	0,2
4	22	3	53,0	53,0	0	52,2	52,0	0,2	53,8	54,0	0,2
5	24	5	53,0	54,7	1,7	58,0	58,4	0,4	58,7	58,7	0
6	32	5	52,5	54,4	1,9	49,7	50,7	1,0	54,0	54,0	0
7	30	2	55,0	55,0	0	55,0	56,8	1,8	55,5	55,0	—0,5
8	29	2	53,0	55,5	2,5	55,3	57,9	2,6	58,3	58,4	0,1
9	27	9	53,0	54,0	1,0	51,0	52,4	1,4	54,0	54,2	0,2
10	22	6	57,5	58,5	1,0	55,0	55,5	0,5	59,3	59,6	0,3
11	23	1	54,7	56,0	1,3	56,5	57,2	0,7	59,0	59,6	0,6
12	27	6	52,7	54,0	1,3	52,4	54,0	1,6	56,4	57,0	0,6
13	28	9	52,0	53,0	1,0	51,4	53,0	1,6	53,2	54,0	0,8
14	23	7	51,6	52,7	1,1	53,5	53,5	0	53,0	53,0	0
			[51,6	52,7	1,1	47,4	47,6	0,2	53,0	53,0	0
15	18	2	56,0	56,8	0,8	55,4	55,5	0,1	57,3	57,3	0
			[55,5	56,2	0,7	55,0	55,0	0	57,3	57,3	0
16	37	1½	53,3	53,3	0	51,7	52,7	1,0	55,0	55,0	0
			[53,3	53,4	0,1	53,2	54,0	0,8	55,0	55,0	0
17	23	1½	56,2	56,5	0,3	54,6	55,4	0,8	57,5	57,5	0
			[53,3	54,0	0,7	51,0	51,6	0,6	57,5	57,5	0
18	20	2½	52,4	54,4	2,0	51,5	53,5	2,0	53,2	53,2	0
			[52,0	54,0	2,0	52,0	53,5	1,5	53,2	53,2	0
19	31	1½	57,5	58,4	0,9	58,0	58,0	0	58,8	58,8	0
			[55,6	56,3	0,7	56,5	57,0	0,5	58,8	58,8	0
20	27	7	52,0	52,6	0,6	50,3	50,2	—0,1	52,9	52,9	0
			[52,0	52,6	0,6	52,0	52,0	0	52,9	52,4	—0,4
21	27	8	51,2	52,4	1,2	51,8	52,0	0,8	52,4	52,0	—0,4
			[51,5	52,4	0,9	51,8	52,0	0,8	52,4	52,0	—0,4
22	20	2	57,0	57,8	0,8	56,0	56,7	0,7	57,3	57,3	0
			[56,5	56,7	0,2	56,4	57,6	1,2	57,3	57,3	0
23	27	9	53,7	54,4	0,7	53,4	53,4	0	55,0	55,0	0
			[53,6	54,0	0,4	54,7	55,6	0,9	55,0	55,0	0
24	23	1½	51,4	52,4	1,0	51,3	53,0	1,7	55,2	55,2	0
			[51,3	52,0	1,0	53,8	54,0	0,2	55,2	55,2	0
25	31	4	56,7	57,0	0,3	56,0	59,0	3,0	57,0	57,0	0
			[56,7	57,4	0,7	56,3	56,4	0,1	57,0	57,0	0
26	25	9	60,4	60,7	0,3	—	—	—	58,8	58,8	0
27	31	9	54,8	54,7	—0,1	—	—	—	56,5	56,6	0,1
28	35	9	57,6	57,8	0,2	—	—	—	58,8	58,8	0
29	18	9	54,4	55,1	0,7	55,1	55,6	0,5	56,3	56,6	0,3
30	25	9	55,3	55,8	0,5	56,3	56,3	0	57,5	57,8	0,3
31	23	6	58,0	59,0	1,0	58,0	58,5	0,5	59,7	60,0	0,3
32	22	9	55,0	55,7	0,7	55,0	55,8	0,8	57,3	58,1	0,8
33	29	9	55,2	55,0	—0,2	55,0	55,3	0,3	—	—	—

Ta[illegible]llen.

(S[illegible]wangere).

Met[illegible]de			Chemische Methode (in mg N_2O_3)					
Serum allein (inaktiv)			Serum + Placenta			Serum allein		
Sk[illegible]	Sk_2	Diff.	v. Bebrütung	n. Bebrütung	Differenz	v. Bebrütung	n. Bebrütung	Differenz
[illegible]	58,5	—0,1	—	—	—	—	—	—
[illegible]	61,5	—1,2	0,0013	0,0015	0,0002	—	—	—
[illegible]	62,5	0,7	0,0006	0,0012	0,0006	—	—	—
[illegible]	54,0	—0,6	0,0014	0,0008	0,0006	—	—	—
[illegible]	60,0	0	0,0008	0,0010	0,0002	—	—	—
[illegible]	54,2	—0,3	—	—	—	—	—	—
[illegible]	56,0	0	0,0016	0,0018	0,0002	—	—	—
[illegible]	59,0	0,2	0,0007	0,0007	0	0,0007	0,0007	0
[illegible]	56,0	2,0	0,0007	0,0008	0,0001	0,0005	0,0005	0
[illegible]	60,5	1,0	0,0014	0,0010	—0,0004	—	—	—
[illegible]	60,0	0,4	—	—	—	—	—	—
[illegible]	58,5	1,5	0,0014	0,0018	0,0004	—	—	—
[illegible]	54,5	0,7	0	0,0011	0,0011	—	—	—
[illegible]	53,5	0	0,0010	0,0015	0,0005	—	—	—
[illegible]	53,5	0]						
[illegible]	58,0	0	0,0008	0,0009	0,0001	0,0008	0,0008	0
[illegible]	58,0	0]						
[illegible]	55,5	0	0,0008	0,0009	0,0001	0,0008	0,0009	0,0001
[illegible]	55,5	0]						
[illegible]	58,3	0	0,0009	0,0009	0	0,0009	0,0010	0,0001
[illegible]	58,3	0]						
[illegible]	53,5	—0,5	0,0015	0,0011	—0,0004	0,0015	0,0013	—0,0002
[illegible]	54,0	0]						
[illegible]	59,4	0	0,0010	0,0015	0,0005	—	—	—
[illegible]	59,4	0]						
[illegible]	53,3	0	—	—	—	—	—	—
[illegible]	52,5	—0,5]						
[illegible]	53,0	0	0,0009	0,0011	0,0002	0,0009	0,0008	—0,0001
[illegible]	52,5	—0,5]						
58.[illegible]	57,0	—1,0	0,0009	0,0010	0,0001	0,0009	0,0009	0
[illegible]	57,0	—1,0]						
[illegible]	56,0	0	—	—	—	—	—	—
[illegible]	56,2	0]						
56[illegible]	56,0	0	0,0009	0,0009	0	0,0009	0,0009	0
[illegible]	56,0	0]						
[illegible]	57,4	0	0,0015	0,0015	0	—	—	—
[illegible]	57,4	0]						
[illegible]	—	—	0,0007	0,0006	0,0001	0,0005	0,0005	0
—	—	—	—	0,0006	—	—	0,0004	—
—	—	—	0,0005	0,0005	0	0,0005	0,0005	0
57.[illegible]	57,6	0,2	—	—	—	—	—	—
58.[illegible]	58,5	0,3	—	—	—	—	—	—
60,4	60,6	0,2	—	—	—	—	—	—
[illegible]	58,3	0,3	—	—	—	—	—	—
56,8	56,0	—0,8	—	—	—	—	—	—

Tabelle II

Nr.	Alter	*Refraktometrische*								
		Serum + Placenta (aktiv)			*Serum + Placenta* (inaktiv)			*Serum allein* (aktiv)		
		Sk_1	Sk_2	Diff.	Sk_1	Sk_2	Diff.	Sk_1	Sk_2	Diff.
1	27	51,4	53,4	2,0	55,4	57,0	1,6	56,5	56,5	0
2	28	50,0	53,0	3,0	49,0	49,8	0,8	61,3	61,3	0
3	26	55,0	56,0	1,0	57,0	57,0	0	57,0	57,0	0
4	33	58,7	60,2	1,5	54,5	55,0	0,5	60,0	60,0	0
5	9	59,2	59,4	0,2	54,0	55,0	1,0	60,7	60,7	0
6	9	58,6	59,6	1,0	57,7	58,5	0,8	62,0	62,0	0
7	42	56,0	57,2	1,2	56,3	58,8	0,5	57,7	57,7	0
8	16	58,0	59,0	1,0	58,0	58,5	0,5	59,4	59,0	—0,4
9	19	59,0	60,7	1,7	58,0	60,0	2,0	61,5	61,0	—0,5
10	17	58,0	60,0	2,0	54,5	55,6	1,1	61,3	62,0	0,7
11	28	58,0	59,7	1,7	58,0	60,0	2,0	62,0	63,0	1,0
12	50	55,0	56,3	1,3	53,0	51,2	1,2	57,0	58,0	1,0
13	19	55,0	56,0	1,0	54,0	54,7	0,7	56,0	57,0	1,0
14	21	55,8	57,4	1,6	58,0	57,8	—0,2	63,0	63,5	0,5
		[57,0	58,6	1,6	57,6	58,0	0,4	62,6	63,0	0,4
15	32	53,7	54,9	1,2	54,7	55,4	0,7	57,8	60,5	2,7
		[53,7	54,9	1,2	55,3	56,3	1,0	57,8	57,8	0
16	16	56,0	56,3	0,3	57,4	57,8	0,4	58,0	58,0	0
17	23	53,6	54,7	1,1	60,9	62,0	1,1	62,5	62,5	0
18	9	56,6	56,9	0,3	59,6	60,4	0,8	62,0	62,0	0
19	22	55,1	56,4	1,3	58,8	61,5	2,7	58,7	58,8	0,1
20	25	57,7	58,9	1,2	58,2	58,7	0,5	59,4	58,7	—0,7
21	21	60,4	59,4	—1,0	60,3	60,2	—0,1	—	—	—
22	18	54,8	55,4	0,6	55,1	57,0	1,9	59,7	60,0	0,3
23	17	61,5	62,3	0,8	—	—	—	62,2	62,8	0,6
24	17	55,0	55,6	0,6	—	—	—	56,0	56,0	0
25	30	57,8	58,2	0,4	—	—	—	59,0	59,3	0,3
26	38	61,0	61,3	0,3	—	—	—	62,8	62,8	0
27	24	57,0	57,4	0,4	—	—	—	57,9	57,3	—0,6
28	21	60,2	60,7	0,5	—	—	—	62,0	62,0	0
29	20	60,7	60,7	0	—	—	—	61,4	61,4	0
30	18	59,3	59,6	0,3	—	—	—	63,3	63,3	0
31	29	53,3	53,6	0,3	—	—	—	60,7	60,7	0
32	27	57,2	57,3	0,1	—	—	—	58,0	58,0	0
33	20	58,4	58,7	0,3	—	—	—	59,8	59,8	0

dinger-Enzyms, Perhydridase), in Anwesenheit von Aldehyden oder Eiweißabbauprodukten Nitrate in Nitrite umzuwandeln. Für diese chemische Bestimmung behandelten wir das Serum in derselben Weise wie für die refraktometrische, nur wandten wir statt 0,01 g 0,1 g Substrat und entsprechend mehr Kochsalzlösung an. Nach Absaugen der Kochsalzlösung fügten wir dem Substrat 3 ccm Serum hinzu. Als Kontrolle diente die gleiche Menge Serum ohne Substrat. Versuche mit inaktiviertem Serum wurden nur in einzelnen Fällen (und zwar konnten wir hier durch Kochen inaktivieren) durchgeführt. Nach 10 Minuten langem Stehenlassen und Zentrifugieren wurden die Eiweiß-

(Nichtschwangere).

Methode			Chemische Methode					
Serum allein (inaktiv)			Serum + Placenta			Serum allein		
Sk	Sk_2	Diff.	v. Bebrütung	n. Bebrütung	Differenz	v. Bebrütung	n. Bebrütung	Differenz
57,3	57,4	0,1	0,0010	0,0010	0	—	—	—
61,0	61,0	0	0,0015	0,0016	0,0001	—	—	—
58,0	58,2	0,2	0,0010	0,0011	0,0001	0,0009	0,0010	0,0001
57,0	57,0	0	0,0010	0,0018	0,0008	0,0008	0,0004	—0,0004
56,2	56,2	0	0,0008	0,0018	0,0010	0,0008	0,0018	0,0010
62,7	63,4	0,7	0,0008	0,0018	0,0010	0,0008	0,0018	0,0010
58,3	58,8	0,5	0,0009	0,0015	0,0006	0,0010	0,0010	0
60,5	60,0	—0,5	0,0016	0,0011	—0,0005	—	—	—
61,0	61,0	0	0,0019	0,0016	—0,0003	—	—	—
60,8	60,8	0	—	—	—	—	—	—
63,0	63,4	0,4	—	—	—	—	—	—
58,0	60,3	2,3	0,0005	0,0007	0,0002	0,0005	0,0007	0,0002
56,8	57,7	0,9	0,0009	0,0010	0,0001	0,0009	0,0010	0,0001
63,6	65,3	1,7	0,0013	0,0017	0,0004	—	—	—
63,4	63,4	0]						
58,0	58,0	0	0,0010	0,0011	0,0001	0,0009	0,0009	
58,0	58,0	0]						0
59,0	59,0	0	—	—	—	—	—	—
63,0	64,0	1,0	—	—	—	—	—	—
62,4	62,0	—0,4	—	—	—	—	—	—
60,0	59,0	—1,0	—	—	—	—	—	—
60,3	60,8	0,5	—	—	—	—	—	—
62,4	63,0	0,6	—	—	—	—	—	—
60,0	60,0	0	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	0,0009	0,0010	0,0001	0,0009	0,0009	0
—	—	—	0,0010	0,0009	—0,0001	0,0009	0,0009	0
—	—	—	0,0009	0,0010	0,0001	0,0009	0,0010	0,0001
—	—	—	—	—	—	0,0009	0,0009	0
—	—	—	0,0010	0,0010	0	0,0010	0,0010	0
—	—	—	0,0008	0,0007	—0,0001	0,0007	0,0007	0
—	—	—	0,0013	0,0011	—0,0002	0,0011	0,0011	0
—	—	—	0,0011	0,0011	0	0,0011	0,0011	0
—	—	—	0,0010	0,0011	0,0001	0,0010	0,0010	0
—	—	—	—	—	—	0,0007	0,0007	0

abbauprodukte im Serum quantitativ bestimmt. Zu diesem Zwecke wird zu 1 ccm Serum 1 ccm physiologische Kochsalzlösung, 1 ccm 5proz. Natriumnitrat und 1 ccm Perhydridaseemulsion[1]), die 0,1 g trockenes Fermentpulver auf 1 ccm destillierten Wassers enthält, hinzugefügt. Die Mischung wird gut durchgeschüttelt und während einer halben Stunde bei 60° im Wasserbade gehalten. Nach dieser

[1]) Nachdem es unlängst im hiesigen Institut *Sbarsky* und *Michlin* (die betreffende Arbeit erscheint demnächst) gelang, das reduzierende Ferment der Milch in trockenem Zustande herzustellen, konnten wir das in der Milch enthaltene Ferment durch trockenes Pulver ersetzen.

Frist wird das Eiweiß mittels 1 ccm gesättigter basischer ... lösung gefällt und das Gemisch in trockene graduierte Yken-Rea... gläser filtriert. Zu 3 ccm klaren Filtrats wird das gleiche Volumen des Reagens *Ilosvay-Lunge* (α-Naphthylamin + Sulfanilsäure in essigsaurer Lösung) gegeben. Bei Vorhandensein von Eiweißabbauprodukten nimmt das Gemisch eine mehr oder weniger intensive Rosafärbung an, welche mit der einen Standardlösung, die im Kubikzentimeter 0,01 mg N_2O_3 enthält und mit dem gleichen Reagens versetzt worden ist, in üblicher Weise verglichen wird. Die Resultate werden in Milligrammen N_2O_3 ausgedrückt. Die Eiweißabbauprodukte wurden im „Serum + Organ" und in der Kontrolle (Serum allein) bestimmt, wobei gewöhnlich zwei Bestimmungen ausgeführt wurden: die erste nach der Blutentnahme, die zweite nach 16stündigem Stehen im Thermostaten bei 34 bis 35°. Nach der Differenz zwischen den erhaltenen Werten an N_2O_3 vor und nach der Bebrütung ließ sich der positive oder negative Ausfall der Reaktion beurteilen. In einigen Fällen benutzten wir die Differenz zwischen der Menge der Eiweißabbauprodukte im „Serum + Organ" und „Serum allein" nach Bebrütung für die Beurteilung des Ausfalls der Reaktion. Bei der chemischen Bestimmung wurde ebenfalls unter durchaus sterilen Bedingungen gearbeitet, was mit Hilfe bakteriologischer Untersuchung kontrolliert wurde.

IV. Diskussion.

Zunächst einige Bemerkungen betreffend die Inaktivierung des Serums. Wie aus den Tabellen zu ersehen ist, führt nicht die Inaktivierung bei 58° zum Ziel. Andererseits darf bei optischen Methoden das Serum nicht auf eine höhere Temperatur gebracht werden. Da die Thermolabilität als einzig stichhaltiges Merkmal der Enzyme gilt, fehlt noch bisher der direkte Beweis des fermentativen Charakters der A. R. Inaktivierung bei 58° wandten hier diejenigen Forscher an, welche diese Reaktion mit Bakterio- und Cytolysinen in Zusammenhang brachten und durch Hinzufügen von frischem Serum die in der A. R. mitwirkenden Fermente zu reaktivieren suchten. *Ewald*[1]) und andere halten den Ambozeptor-Komplementcharakter (im Sinne *P. Ehrlichs*) der A. R. für nicht bewiesen, und dieser Zweifel ist sicher begründet. Der Umstand, daß das inaktive Serum auch ein positives, zuweilen sogar ein stark ausgesprochenes Resultat gibt (vgl. Tabellen), spricht deutlich gegen die komplementären Eigenschaften der A. R., die bei 58° verschwinden müßten. So zeigten unter 55 inaktivierten Serumproben nur 28 einen höheren refraktometrischen Brechungsindex als die inaktiven; in den übrigen Fällen war der Index für aktives

---

[1]) Die *Abderhalden*sche Reaktion. Verlag Karger, 1920.

und inaktives Serum beinahe derselbe (in zehn Fällen) oder in inaktiven sogar höher (in 17 Fällen). Ähnliche Befunde wurden vor uns schon von anderen Autoren, welche das Dialysierverfahren benutzten, erwähnt. Insbesondere suchte *Ewald* diese Tatsache durch die Annahme zu erklären, daß aktives Serum einen „thermolabilen hemmenden Körper" enthalte, welcher bei der Inaktivierung beseitigt werde. Diese Erklärung ist für solche Fälle, wo der Brechungsindex in inaktivem Serum höher ausfällt als in aktivem, offenbar unzulänglich. Es ist klar, daß Inaktivieren bei 58° keine Wirkung auf die Fermente ausübt, eine höhere Temperatur ist aber aus technischen Gründen unzulässig, daher die Unlösbarkeit der Frage. Nachdem wir uns von der Zwecklosigkeit derartiger Inaktivierung überzeugten, führten wir in unseren letzten Versuchen keine dieser Kontrollen durch und ließen die Frage nach dem fermentativen Charakter der von uns bei der A. R. beobachteten Erscheinungen unentschieden.

Indem wir nun zur Beurteilung des spezifischen Charakters der A. R. übergehen, stoßen wir in erster Linie auf die Schwierigkeit, zu entscheiden, welche Veränderung des Brechungsindex als positive Reaktion anzusehen ist. Es müssen dabei die beim Ablesen der refraktometrischen Skala begangenen Fehler sowie die durch Verflüchtigung eines Teiles des Wassers während 16stündigen Stehens bewirkten notwendigerweise berücksichtigt werden. In 45 Fällen führten wir parallele Bestimmungen mit demselben Serum aus (vgl. in den Tabellen die in Klammern gesetzten Zahlen), und es zeigte sich, daß nur in 27 Fällen eine beinahe volle, bis auf 0,2 genaue Übereinstimmung der refraktometrischen Brechungswerte je zweier Proben erhalten wurde, in 18 Fällen erreichen die Abweichungen im Durchschnitt 0,5 bis 0,6. Diese Angaben zeigen, wieviel die geringsten Bedingungsveränderungen des Milieus (unkontrollierbare Unterschiede in den Eigenschaften der Geräte, verschiedene Arten ihrer Vorbereitung für den Versuch, verschiedene Größe und Oberfläche der Antigenteilchen usw.) den Umfang des refraktometrischen Index beeinflussen können. Weiter muß man auch mit den Adsorptionserscheinungen, welche durch das Einführen von Geweben im Serum ausgelöst werden und Fehler bewirken mögen, rechnen. In der Regel wächst der Brechungsindex von der ersten Spalte unserer Tabellen (Serum + Organ) bis zur letzten (Serum allein). Das eingeführte Organ adsorbiert einen Teil des Serums, weshalb der Brechungsindex in der ersten Reihe niedriger ausfällt. Es muß noch der Umstand berücksichtigt werden, daß das Serum, sowohl aktives als inaktives, das letztere häufiger, auch unter sterilen Bedingungen, teilweise der Autolyse anheimfällt. (Der Brechungsindex verändert sich bei 16stündigem Stehen in inaktivem Serum in etwa 60 bis 70 Proz. der Fälle, in aktivem nur in

etwa 50 Proz.; diese Angaben sind für Schwangere und andere gleich.) Die Autolyse kann so intensiv sein, daß die Veränderung der Indizes im Durchschnitt bis 0,4 bis 0,6 erreicht. In manchen Fällen erhielten wir negative Ausschläge des Brechungsindex, was auch von *Meyer* beobachtet wurde. Wir sehen, daß die Quellen der Versuchsfehler von mannigfaltiger Natur sind. Unserer Erfahrung nach erreicht der Höhepunkt der Fehler 0,5 bis 0,6. Andere Forscher geben andere Grenzen an. *Pregl* und *Crinis* sprechen in ihrer ersten Arbeit nur da von positiver Reaktion, wo der Brechungsindex sich im Laufe von 24 Stunden um mehr als 15 Einheiten in der fünften Dezimale (d. h. 0,4 bis 0,5 der refraktometrischen Skala) verändert. *Crinis* und *Mahnert* zeigen schon nur 7 Einheiten (0,2) als untere Grenze an; *Meyer* geht von 12 Einheiten aus (0,4) und endlich *Glöckler* von 22 Einheiten (0,6 bis 0,7). Zur Beurteilung dessen, was eine positive Reaktion genannt werden kann, führen *Glöckler* und andere zuerst einige Fälle von „Gesunden“ an und betrachten die höchste Veränderungszahl des Brechungsindex in 24 Stunden als Grenze, oberhalb welcher schon die positive Reaktion beginnt. Wir konnten diese untere Grenze nicht feststellen, da wir auch bei Gesunden sehr hohe Zahlen beobachteten, manchmal sogar höhere als bei Schwangeren. Wir versuchten die durchschnittliche Größe der Brechungsveränderung für Schwangere und andere zu berechnen und erhielten beinahe gleiche Zahlen (für Schwangere 1,1, für die übrigen 1,2). Summieren wir die von uns erhaltenen Ergebnisse unter Zugrundelegung dieser verschiedenen Voraussetzungen, so erhalten wir folgende ziemlich lehrreiche Zahlen.

Positive und negative Ergebnisse in Prozenten.

Als untere Grenze angesehene Brechungswerte		0,3 Proz.	0,4 Proz.	0,5 Proz.	0,6 Proz.	0,7 Proz.	0,8 Proz.
Schwangere 33 Fälle	+ A. R. . . .	72,9	66,6	57,6	54,6	48,4	33,3
	– A. R. . . .	27,1	33,4	42,4	45,4	51,6	66,7
Nichtschwangere 33 Fälle	+ A. R. . . .	75,7	54,6	57,5	48,4	45,4	39,4
	– A. R. . . .	34,3	45,4	42,5	51,6	54,6	60,6

Berücksichtigt man nur die für Schwangere erhaltenen Ergebnisse, so ersieht man, daß die Anzahl positiver Resultate, wie zu erwarten war, mit Verminderung des Schwellenwertes, wobei man natürlich immer mehr in den Bereich der Fehlergrenzen gelangt, zunimmt, aber auch bei den höchsten Schwellenwerten noch 33,3 Proz. positive, also richtige Ausschläge zu verzeichnen sind, wodurch freilich die diagnostische Bedeutung der A. R. beträchtlich eingeschränkt, nicht aber aufgehoben werden könnte. Stellt man aber diesen Ergebnissen die mit Nichtschwangeren und Männern erhaltenen zur Seite, so *findet man eine auffallende Übereinstimmung beider Zahlenreihen.* Will man

daher die beobachteten Änderungen des Brechungsindex einem Abbau von Organeiweißen zuschreiben, sò muß man doch erkennen, daß *von einer Spezifizität im Sinne der Auffassungen von Abderhalden nicht die Rede sein kann.* Von verschiedenen Forschern — *Sachs*, *Bronfenbrenner*, *Jobling* u. a. — ist die Ansicht ausgesprochen worden, daß bei der A. R. eine Adsorption des im Serum enthaltenen Antiferments stattfinde, wodurch eine Selbstverdauung des Serums zustande komme. Trifft diese Annahme zu, so kommt man wiederum zu dem Schluß, daß es sich hier nicht um eine Wirkung spezifischer Abwehrfermente handelt.

Aus obigen Versuchen geht hervor, daß aus den Ausschlägen der refraktometrischen Brechungsindizes nicht ohne weiteres auf eine Proteolyse geschlossen werden kann. Es handelt sich eher um Veränderungen des physikalisch-chemischen Zustandes des Serums, dieses äußerst beweglichen heterogenen Systems, dessen Unbeständigkeit besonders scharf in den oben erwähnten (in den Tabellen mit Klammern bezeichneten) parallelen Versuchen zum Vorschein kommt. Die unerklärlichen Verschiebungen der Brechungswerte sowie der bedeutende Prozentsatz positiver Reaktionen bei Nichtschwangeren ließen uns die fermentative Natur der A. R. als zweifelhaft erscheinen. Um weitere Aufschlüsse über diesen Gegenstand zu gewinnen, versuchten wir, die chemische Methode für die Bestimmung von Proteinabbauprodukten anzuwenden. Die Unzulänglichkeit des Dialysierverfahrens führte schon seit langem auf den Weg rein chemischer Erforschung (*Abderhalden* und *Fodor*, *Michaelis*, *Flatow*, *Strauss*, *Paquin* u. a.). *Michaelis* und *Lagermack*[1]) schlugen die Fällung der Eiweiße durch das kolloidale Eisenhydroxyd und die Bestimmung der Eiweißabbauprodukte im Filtrat vor. Sie erhielten dabei sowohl für Schwangere, als auch für Nichtschwangere mit der Placenta ganz unregelmäßige Resultate. *Flatow*[2]) benutzte zu demselben Zwecke statt Eisen — Kaliumoxalat + Essigsäure. Es entstand eine heftige Polemik, in der *Abderhalden* hervorhob, daß bei diesen Fällungsmethoden nicht alles Eiweiß entfernt wird, daß bei der Einwirkung des Eisenhydroxyds eine gewisse Spaltung der Eiweißkörper stattfindet usw. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die quantitative Fällung des Eiweißes große Schwierigkeiten bietet und unter den hier in Betracht kommenden Bedingungen kaum ausführbar ist. Nun kommt eine Methodik zur Hilfe, welche vor anderen den Vorteil besitzt, daß die Bestimmung der Eiweißabbauprodukte in Anwesenheit von Eiweiß ausgeführt werden kann. Dies ist die schon oben beschriebene, im Jahre 1917 von *A. Bach* vorgeschlagene Methode.

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1914.
[2]) München. med. Wochenschr. 1914.

Durch letztere werden nur die Eiweißabbauprodukte, welche auf fermentativem Wege entstehen, in Anspruch genommen, was gerade bei der A. R. zu erzielen gesucht wird. Wichtig ist ferner, daß bei dieser Methode die Kontrolle mit zum Kochen erhitzten Serum durchgeführt werden kann. Wie aus den Tabellen (vgl. die Spalte „Chemische Methode“) zu ersehen ist, beträgt die Zunahme der Eiweißabbauprodukte nach 16 Stunden in günstigsten Fällen nur einige Einheiten der vierten Dezimalen, was nicht die Fehlergrenze überschreitet. Den Ergebnissen dieser Methode zufolge sind also sämtliche Reaktionen als negativ anzusehen. Unter der Voraussetzung, daß die Menge der erhaltenen Eiweißabbauprodukte für den Ausfall der Reaktion zu gering seien, wiederholten wir diese Versuche mit doppelter Menge von Serum und Organen, doch blieben die Resultate unverändert.

Die Annahme, daß in pathologischen Fällen eine spezifische Wirkung der Fermente im Serum stattfinde, entbehrt also jeder experimentellen Grundlage.

Nachschrift.

Unsere Versuche waren bereits abgeschlossen, als eine Arbeit von *Kuppelwieser*[1]) („Versuche über Nachweisbarkeit immunisatorisch bedingter Fermentprozesse“) erschien, in welcher mit der refraktometrischen Methode bei Schwangeren (13 Fälle) ausschließlich negative Resultate mit der Placenta erhalten wurden. Durch diese Resultate enttäuscht, gibt Verfasser der Vermutung Platz, daß diese Nichtreproduzierbarkeit der „Mikro-Abderhaldenreaktion“ von noch nicht aufgeklärten Umständen abhänge; außerdem hatte in allen Fällen die Schwangerschaft schon den siebenten Monat erreicht, und Verfasser fragt sich, ob die spezifischen Fermente nicht am Ende der Schwangerschaft verschwinden. Unsere Versuche, bei welchen unabhängig von den Zeiten der Schwangerschaft bald positive, bald negative Reaktionen erhalten wurden, beweisen zur Genüge die Grundlosigkeit derartiger Spekulationen.

Zusammenfassung.

1. Es wurde eine Nachprüfung der „Mikro-Abderhaldenreaktion“ nach *Pregl-Crinis* unter Einhaltung aller Kautelen moderner Enzymologie unternommen.

2. Es erwies sich als unbedingt nötig, stets folgende Kontrollversuche anzustellen: aktives Serum + Organ, inaktives Serum + Organ, aktives Serum allein, inaktives Serum allein. Dabei läßt sich öfter beobachten, daß sowohl aktives wie inaktives Serum ohne Substrat eine bedeutende Veränderung des Brechungsindex beim Aufbewahren aufweisen. Diese Veränderungen, welche 0,4 bis 0,6 der

[1]) Diese Zeitschr. 145, 1924.

Refraktometerskala erreichen, hängen sowohl von autolytischen Prozessen, als auch von unkontrollierbaren Verschiedenheiten der Versuchsbedingungen ab. In den Versuchen „Serum + Organ" kommen noch Adsorptionserscheinungen hinzu.

3. Je tiefer man die als positives Resultat zu betrachtende Grenze des Refraktometerausschlages wählt (wobei man natürlich immer mehr in den Bereich der Fehlergrenzen gelangt), desto häufiger erhält man eine positive Reaktion. Jedoch auch in diesen Grenzen ist sie keineswegs spezifisch: Welche auch immer die gewählte Grenze sein mag, es ist keine Differenz zwischen dem Ausfall der A. R. bei Schwangeren und Nichtschwangeren zu beobachten.

4. Da bei der optischen Untersuchungsmethode eine völlige Inaktivierung durch Kochen unmöglich ist, so bleibt der fermentative Charakter der beobachteten Veränderungen des Brechungsindex unbewiesen.

5. Weil eine Verschiebung des Brechungsindex nicht nur durch eine etwa stattfindende Proteolyse, sondern auch durch eine Veränderung der physikalisch-chemischen Beschaffenheit des Serums bedingt sein mag, so wurde die chemische Methode von *Bach* herangezogen, welche gestattet, die Eiweißabbauprodukte neben unverändertem Eiweiß auf chemischem Wege zu bestimmen.

6. Auch die Anwendung dieser Methode ergab keinerlei Anhaltspunkte für die Annahme des fermentativen Charakters der bei der A. R. sich abspielenden Prozesse.

An dieser Stelle ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor *A. Bach* für seine Anregung bei Ausführung dieser Arbeit meinen tiefsten Dank auszusprechen.

Ein Beweis
für die Konstanz der [H˙] der lebenden Bakterienzelle.

Von

Michael Bálint.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 26. August 1924.)

Die Tatsache, daß die Wirkungsstärke der Gifte auf Bakterien durch die Reaktion des Milieus in hohem Grade beeinflußt wird, ist auf Grund zahlreicher Versuche schon lange bekannt. Diese Erscheinung wurde einerseits auf Veränderungen der Gifte (Dissoziationszustand, Oberflächenaktivität, Löslichkeit usw.) zurückgeführt, andererseits dachte man, daß die Bakterienzellen selbst irgendwie beeinflußt wurden.

Meistens wurde die Ladung der Zelle (also Wanderungsrichtung, Flockungsoptimum usw.) untersucht und tiefgreifende, oft aber reversible Veränderungen festgestellt [wie z. B. *Eggert* (1) an Bakterien, *Lewis* (2) an Bindegewebszellen von Hühnerembryonen usw.]. Es schien also berechtigt, anzunehmen, daß lebende Zellen sich in mancher Beziehung als Ampholyte verhalten, d. h. einen isoelektrischen Punkt im sauren Gebiet wie die einfachen Eiweißkörper besitzen; in noch saurerem Milieu sind sie positiv, in neutralem dagegen negativ aufgeladen; sie fungieren also selten als Kationen, normalerweise aber als Anionen. Es finden sich aber auch dieser Auffassung widersprechende Angaben in der Literatur. So konnten z. B. *Falk* und *Shanghnessy* (4) zwar eine Vermehrung bzw. Verminderung der Wanderungsgeschwindigkeit von Kolibazillen in Medien von extremen p_H konstatieren, aber die Richtung der Wanderung blieb bis zur Koagulation (bei p_H 4 bzw. 10) stets dieselbe. Es wurden auch Versuche unternommen, den herrschenden p_H in der lebenden Zelle selbst mittels Indikatoren zu bestimmen, aber entweder blieben die Zellen ungefärbt oder, falls gefärbt, erwiesen sie sich als abgestorben [*Lewis* (1), *Seiffert* (3)].

Meine Fragestellung war also folgende: Ist es möglich, die [H˙] im Innern der lebenden Bakterienzelle durch extreme Ansäuerung des Außenmilieus stark zu verändern? Zur Entscheidung dieser Frage verwandte ich Staphylokokken, von denen schon lange bekannt war, daß sie gegen Säure in hohem Grade unempfindlich sind. Durch Vorversuche wurde festgestellt, daß die Kultur bei p_H 3,5 noch leidlich anging, dagegen bei 3,0 in ziemlich kurzer Zeit abstarb. Es wurden

einige Bouillonkulturen dieser Kokken während etwa 5 Wochen bei p_H 3,5 gehalten. Sie zeigten dabei nicht das übliche üppige Wachstum, immerhin vermehrten sie sich auch bei diesem sehr hohen Säuregrad so weit, daß innerhalb 24 Stunden die vorher klare Flüssigkeit deutlich trübe wurde.

24 Stunden alte Bouillonkulturen wurden scharf auszentrifugiert und der entstehende Bodensatz in einer n/100 gepufferten, mit physiologischer Kochsalzlösung stark verdünnten Farbstofflösung aufgenommen. Als Farbstoffe verwandte ich die Indikatoren Lackmustinktur und eine gesättigte Lösung von Rosolsäure. Die Bakterien wurden 30 Minuten in der Flotte gelassen, danach scharf auszentrifugiert und im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop untersucht. Es zeigte sich dabei das überraschende Resultat, daß die Kokken selbst trotz der stark sauren Reaktion der Außenflüssigkeit durch Lackmus rein blau, durch Rosolsäure orangerot gefärbt waren.

Dies bedeutet, daß selbst nach fünfwöchigem Verweilen in einem Medium von p_H etwa 3,5 im Innern der Zelle noch immer die normale Wasserstoffzahl zwischen 7,0 (Lackmus rein blau) und 8,0 (Rosolsäure noch orange) herrscht.

Literatur.

1) *A. H. Eggert*, Journ. gen. phys. **6**, 63, 1923. — 2) *M. R. Lewis*, Bull. Journ. Hopkins Hosp. **34**, 373, 1923. — 3) *Seiffert*, Centralbl. f. Bakt. **88**, 1. Teil, H. 2. — 4) *I. S. Falk*, *H. I. Shanghnessy*. Proc. soc. exper. biol. **20**, 426, 1923.

Beiträge zu einer Pharmakologie der Konzentrationsänderungen.

II. Mitteilung:

Über den Mechanismus der Adrenalinwirkung.

Von

L. Jendrassik und E. Moser.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest.)

(Eingegangen am 28. August 1924.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

In der ersten Mitteilung hatte einer von uns[1]) darauf aufmerksam gemacht, wie oft wir vorübergehenden pharmakologischen Wirkungen in Experimenten mit überlebenden Organen begegnen. Sehr auffallend sind diese am isolierten Kaninchendünndarm, wenn man die Kationenkonzentrationen der umgebenden Tyrodelösung plötzlich verändert. Am besten zu erklären sind diese Wirkungen, wenn man annimmt, daß hierbei den Effekt auslösenden Reiz die Veränderung der Konzentration des betreffenden Ions an der Stelle der Wirkung bildet.

Bisher wurde auf diese vorübergehenden Änderungen wenig geachtet. Eine Ausnahme bildet eigentlich nur das Adrenalin. Seit die blutdrucksteigernde Wirkung der Nebennierenextrakte bekannt wurde, beschäftigten sich viele mit der Frage, warum diese Wirkung nur von einer so kurzen Dauer ist. Im Aufrechterhalten des normalen Blutdrucks kann ein Hormon nur dann eine wichtige Rolle spielen, wenn es seine Wirkung auch längere Zeit behauptet. Die Veränderlichkeit der Blutdrucksteigerung erklärten *Oliver* und *Schäfer*[2]) bekanntlich damit, daß das Adrenalin aus der Blutbahn rasch hinausdiffundiert; *Czybulski* und *Szymonivitz*[3]) wieder so, daß es im Blute sich in kurzer Zeit zersetzt. Besonders diese letztere Anschauung gewann viele Anhänger und ist bis heute in den Lehrbüchern allgemein.

Es sind jedoch viele Erscheinungen bekannt, die diese beiden Ansichten bestreiten. Gegen die Zersetzungshypothese spricht, daß im Blute oder in Organextrakten (mit derselben Wasserstoffzahl) das Adrenalin sich

---

[1]) *L. Jendrassik*, diese Zeitschr. **148**, 116, 1924.
[2]) *Oliver* und *Schäfer*, Journ. of Physiol. **16**, 1.
[3]) *Czybulski* und *Szymonovitz*, Pflügers Arch. **64**, 97.

so langsam zersetzt, daß davon die Flüchtigkeit der Wirkung nicht zu verstehen ist. Schon *Embden* und *Fürth*[1]) machten hierauf aufmerksam. Gegen beide Erklärungen spricht dann, daß das Adrenalin auch langdauernde Wirkungen hat. Subkutan oder perkutan injiziert, ruft es mehrere Stunden lang anhaltenden anämischen Fleck hervor, auch dann, wenn es in isotonischer $NaHCO_3$-Lösung gegeben wird, deren Alkalinität die des Blutes weit übertrifft.

Gegen beide Erklärungsweisen sprechen die Experimente von *Weiss* und *Harris*[2]) und von *Ehrmann*[3]), die zeigten, daß auch nach Abklingen der Blutdrucksteigerung das Blut des Tieres wirksames Adrenalin enthält. — Ebenso wichtig sind die Versuche von *S. J. Meltzer* und *Cl. Meltzer-Auer*[4]), die zeigten, daß mit einigen Tagen nach der Exstirpation des Ganglion cervicale superior die Wirkung des Adrenalins auf die Pupille und Ohrkapillaren schon keine flüchtige ist, sogar mehrere Stunden andauert.

Auf Grund der in der ersten Abhandlung beschriebenen Versuche dachten wir daran, daß auch die Wirkung des Adrenalins diesen ähnlich ist. In diesem Falle würde das Adrenalin seine spezifische Wirkung am Sympathicusendapparat nur während seines Eindringens zustande bringen, während seine Konzentration dort wächst. Derartige Wirkungen nannten wir *Augmentations-* (Steigerungs-) Wirkungen (A-Wirkung). Diese Auffassung wäre bezüglich des Adrenalins nicht neu. *Straub*[5]), der zum erstenmal auf die Möglichkeit derartiger Wirkungen aufmerksam machte, versuchte auch die Flüchtigkeit der Adrenalinwirkung ähnlicherweise zu deuten. Um dies zu beweisen, führte *Kretschmer*[6]) unter seiner Leitung Versuche aus, in denen er fand, daß auch Adrenalin den Blutdruck manent steigern kann, wenn man das Mittel mit bestimmtem Tempo im stetigen Strome in die Blutbahn injiziert. Dieser Befund ist aber nicht geeignet, die Frage im Sinne *Straubs* zu entscheiden. Gesetzt nämlich, daß die eine oder die andere der früheren Erklärungen die richtige wäre, man könnte die Wirkung dennoch konstant erhalten durch das stetige Ersetzen des zerfallenen oder wegdiffundierten Adrenalins.

Versuchsergebnisse.

Wir haben unsere Versuche an demselben Objekt, wie in der ersten Mitteilung beschrieben, am isolierten Kaninchendünndarm, in der dort angegebenen Versuchsanordnung angestellt.

Gibt man zu 70 ccm der umspülenden Tyrodelösung 1 bis 5 Tropfen 1 : 100000 ($\pm$ 0,0025 mg) Tonogen (*Richter*) oder Suprarenin (*Meister*

---

[1]) *Embden* und *Fürth*, Beitr. z. chem. Phys. u. Path. **4**, 321.

[2]) *Weiss* und *Harris*, Pflügers Arch. **103**, 510, 1904.

[3]) *Ehrmann*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **58**.

[4]) *S. J. Meltzer* und *Cl. Meltzer-Auer*, Centralbl. f. Physiol. **17**, 651, 652, 1903.

[5]) *W. Straub*, Centralbl. f. Physiol. 1905, S. 302; Pflügers Arch. **119**, 127, 1907; Physik.-Med. Ges. Würzburg 1907, 11. Juli.

[6]) *W. Kretschmer*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **57**, 423, 1924.

Lucius), so erhält man bekanntlich eine Verkleinerung der Amplituden oder bei stärkerer Wirkung ein völliges Verschwinden der Bewegungen. Manchmal bleibt dabei der Tonus völlig erhalten, in anderen Fällen sinkt er in beträchtlichem Maße. Wie bekannt, treten beide Wirkungen ganz plötzlich auf, aber dauern auch nicht lange: sie verschwinden allmählich in einigen Minuten. Die Bewegungen gewinnen dabei ihre ursprüngliche Amplitude fast immer vollkommen zurück. Der Tonus, falls gesunken, gewinnt dagegen sein ursprüngliches Niveau nicht immer genau wieder: manchmal bleibt er niedriger, in einigen Fällen etwas höher als vor Zufügung des Adrenalins. Interessanterweise zeigt sich nicht selten eine vorübergehende Kontraktur während Zurücksteigen des Tonus.

In unserer Anordnung läßt sich einfach beweisen, daß die Flüchtigkeit der Adrenalinwirkung nicht durch sein Verschwinden bedingt ist. Ein Wegdiffundieren kommt bei geschlossenen Glasgefäßen natürlich nicht in Frage. Es findet aber auch keine Zersetzung statt.

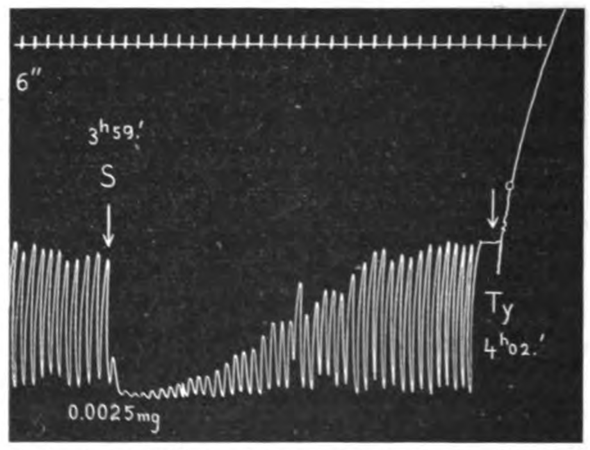


Abb. 1. Bei *S* wird 0,0025 mg Suprarenin (auf 70 ccm) dem Darm zugefügt. Bei *Ty* wird die Suprarenin enthaltende Lösung herabgelassen, aufgefangen und durch reine Tyrodelösung ersetzt (starke Kontraktur). Zeitmarkierung: 6 Sekunden.

Entfernen wir nämlich die mit Adrenalin versetzte Tyrodelösung (A) nach Abklingen der Wirkung vom Darmgefäß [und ersetzen es mit frischer Tyrodelösung (B)] und geben nach einigen Minuten die frühere Lösung A wieder, so erhalten wir von neuem eine Wirkung: Bewegungsverkleinerung bzw. Tonusabfall, nur in etwas kleinerem Grade als früher. Diesen Versuch haben wir nun auch fünf- bis siebenmal mit ein und derselben Flüssigkeit wiederholen können, im letzten Falle nach 35 Minuten der ersten Verabreichung des Mittels (vgl. die Abb. 1 bis 3).

Der Umstand, daß bei der zweiten und noch weiteren Zufügung das Adrenalin in schwächerem Grade wirksam ist, muß auf mehrere Ursachen zurückgeführt werden:

1. Ein Teil des Adrenalins ist wahrscheinlich schon oxydiert und unwirksam geworden.

2. Die Gewebe konnten einen Teil aufgenommen haben (auch indifferente Gewebe).

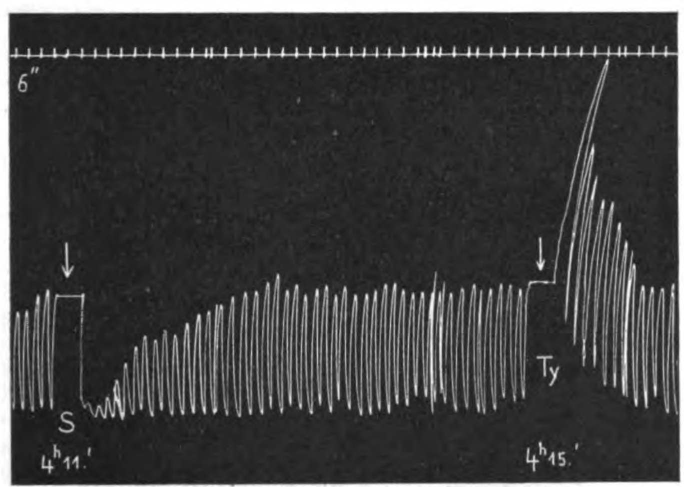


Abb. 2. Die bei Abb. 1 aufgefangene Flüssigkeit wird von neuem dem Darm gegeben (*S*). *Ty* = frische Tyrodelösung.

3. Es sind aus dem Darm solche Stoffe in die Lösung diffundiert, die die Wirkung schwächen. Ein solches ist gewiß das Cholin, welches besonders vom Kaninchendarm durch die Serosaseite in beträchtlichem Quantum austritt [*Magnus*, *Le Heux*] [1]), oder die Stoffe, die nach *Collip* [2]) in fast allen Gewebeextrakten zu finden sind und mit dem Adrenalin antagonistische Wirkung entfalten. Gibt man darum schon beim erstenmal das Adrenalin in einer Lösung, welche mit dem Darm eine Weile (z. B. 10 Minuten) in Berührung war, so ist der Unterschied zwischen der ersten und zweiten Wirkung schon weniger auffallend.

Dieser einfache Versuch beweist also, daß das Adrenalin nach Abklingen der Wirkung noch nicht zersetzt ist. Dies erfolgt erst später.

Abb. 3.
Siebente Wiederholung des Experiments. Bei *S* eine schon sehr abgeschwächte, dennoch deutliche Hemmung. *Ty* = frische Tyrodelösung verursacht eine ebenfalls schwache Diminutionskontraktur.

[1]) *J. W. Le Heux*, Pflügers Arch. **173**, 8 (1919); **179**, 177 (1020).

[2]) *Collip*, Amer. Journ. of Physiol. **53**, 343 (1920).

Durch seine bloße Anwesenheit kann es daher keine Wirkung auf den Darm entfalten.

Die Anwesenheit des Adrenalins gibt aber noch eine andere Erscheinung kund. Wenn wir nämlich die mit Adrenalin versetzte Lösung mit einer frischen ersetzen (wenn auch die Hemmung schon verschwunden ist), kommt es immer zu einem Größerwerden der Bewegungsamplituden, gewöhnlich mit einer Kontraktur einhergehend. Letztere ist besonders dann prägnant, wenn das Adrenalin vorher eine Tonussenkung erzeugte. Nicht selten ist sie von maximaler Stärke.

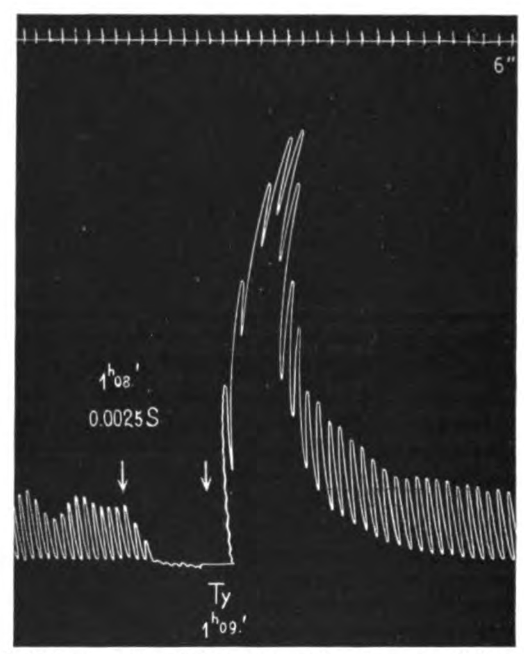


Abb. 4. Zufügung von 0,0025 mg Suprarenin. *Ty* = das Reichen einer frischen Tyrodelösung während der noch bestehenden Suprareninwirkung.

Diese Erregung erscheint nach Auswaschen des Adrenalins fast immer. Geben wir aber dieselbe Lösung von neuem und wird darin das Adrenalin endlich unwirksam, so bleibt auch die Entgiftungskontraktur weg. Dies beweist, daß die Kontraktur nicht durch die Zersetzungsprodukte des Adrenalins erzeugt wird, sondern durch das Adrenalin selbst. Wenn es aber so ist, dann spricht die Anwesenheit dieser Kontraktur schon allein dafür, daß das Adrenalin noch nicht zersetzt ist.

Dies alles macht für uns sehr wahrscheinlich, daß die Sympathicusreizung durch Adrenalin eine *Augmentationswirkung* ist, im Sinne der in der ersten Mitteilung gegebenen Definition.

Die Entgiftungskontraktur ist von besonderem Interesse. Da auch diese durch das Adrenalin verursacht wird und da gar keine noch kleinere

Adrenalindose den Darm zu erregen vermag, folgt, daß der Reiz in der Konzentrationsabnahme (an der Stelle der Wirkung) zu suchen ist. Wir haben daher mit einer *Diminutionswirkung* (Abnahmewirkung) zu tun (vgl. auch Abb. 4). *Kuyer* und *Wijsenbeek*[1]) fanden am Katzendarm nach Entfernung des Adrenalins manchmal Erregung, manchmal Hemmung. Auch wir untersuchten die Wirkung des Adrenalins am Katzendünndarm mit ähnlichem Ergebnis. Es scheint die Hemmung der seltenere Fall zu sein. Am Kaninchendünndarm war eine Hemmung nie zu beobachten.

Es gelang uns, in einigen Fällen die Diminutionskontraktur mit *Atropin* (auf 70 ccm 0,005 bis 0,02 mg Sulfat) auch völlig zu hemmen. Wahrscheinlich nur dann, wenn der Darm unter Cholinwirkung stand[2]). In vielen Fällen konnten wir nämlich die Kontraktur mit Atropin nicht beeinflussen. Vorher gegebenes Atropin (0,001 bis 0,1 mg) vermag das Wiedererscheinen der Bewegungen nicht zu verhindern, auch die Diminutionskontraktur kommt immer zustande. Dies scheint daher keine Vaguserregung zu sein. Jedenfalls ist sie nicht nur eine bloße Vaguserregung.

Das allzu frühe Verschwinden der Hemmung könnte aber auch auf einem anderen Wege erklärt werden. Ebenso wie die durch Adrenalin verursachte Blutdrucksteigerung reflektorisch eine zentrale Vaguserregung auslöst, wäre es auch zu denken, daß unter Umständen auch isolierte Organe, wie der Darm, ähnlicher Leistungen fähig sind. Wenn solcherweise eine äußere Einwirkung (z. B. chemischer Reiz) die automatische Bewegung hemmt, die nicht angegriffene Teile des Bewegungsapparates (irgend einer Weise) eine gesteigerte Tätigkeit entfalten würden. Nach dieser Auffassung möchte das Adrenalin die Sympathicusendapparate so lange erregen, wie es nur mit ihnen in Berührung ist, nur die kompensierende Darmtätigkeit wäre immer stärker und stärker. Vieles könnte man auf diese Weise einfach erklären. Bezüglich des Adrenalins macht aber eine derartige Theorie der Umstand sehr unwahrscheinlich, daß die Diminutionskontraktur auch dann ungeschwächt zustande kommt, wenn wir den Flüssigkeitswechsel mit kurzer Zeit nach Zufügung des Adrenalins vornehmen, als die Bewegungen noch ganz oder fast ganz fehlen (s. Abb. 4).

Wir haben erwähnt, daß das zum Darm gefügte Adrenalin eine ziemliche Zeit, oft über eine halbe Stunde, in wirkungsfähiger Form erhalten bleibt. Geben wir aber das Adrenalin erst zur frischen Tyrodelösung und dann erst mit ihr zum Darm, so erhalten wir nach Ablauf von 3 bis 4 Minuten (nach der Herstellung) meistens schon keine Hemmung, zum Zeichen, daß es in reiner Tyrode unter dieser Zeit zersetzt wird (oft erhält man sogar eine flüchtige Kontraktur). Geben wir aber auch ein kleines Darmstück in die Lösung, so bleibt das Adrenalin schon viel länger wirksam. Noch besser konservieren Adrenalin die Extrakte von verschiedenen Organen (Darm, Leber, Lunge, Skelettmuskel, Herzkammer, Milz, Niere, Blut), die wir in $\pm 1 : 1000$ Tyrode verabreicht haben (2 ccm Extrakt 1 : 30 mit Tyrodelösung hergestellt auf 70 ccm Tyrodelösung). Diese Wirkung der Organextrakte ist schon — wie erwähnt — von *Embden* und *Fürth*[3]) beschrieben. Nach *Abderhalden* und *Gellhorn*[4]) zeigen besonders Aminosäuren solche

---

[1]) *Kuyer* und *Wijsenbeek*, Pflügers Arch. **154**, 16, 1913.

[2]) Vgl. *Le Heux*, Pflügers Arch. **179**, 177 (1920).

[3]) l. c.

[4]) *Abderhalden* und *Gellhorn*, Pflügers Arch. **199**, 437, 1923; vgl. auch *Kudrjawzew*, Zeitschr. f. exper. Med. **36**, 35, 1923.

Eigenschaften. Unsere Versuche bestätigen mit einfacher Methodik diese Ergebnisse.

Die Extrakte hemmen die Zersetzung nicht durch Veränderung des p_H. Dies bleibt bei der gut gepufferten Tyrodelösung ziemlich dasselbe. (Mit den einfarbigen Indikatoren von *Michaelis* erwies sich das p_H der Tyrodelösung 7.8, der mit den Extrakten versetzten Tyrodelösung als ebensoviel.)

Der Umstand, daß Leberextrakt das Adrenalin vor Zersetzung schützt, spricht gegen die alte Auffassung von *Langlois* und *Athanasiu*[1]), welche auf Grund analog angestellter Experimente eben das Gegenteil behaupteten: daß nämlich das Adrenalin durch Leberextrakt zersetzt wird. Sie folgerten hieraus, daß das Adrenalin auch in vivo in der Leber zugrunde geht.

Zum Schluß sei noch bemerkt, daß wegen der raschen Vernichtung des Adrenalins durch frische Tyrodelösung in unserem oben beschriebenen Versuch das Adrenalin nach abgeklungener Wirkung nur auf Einfluß der aus dem Darm herausdiffundierten schützenden Substanzen erhalten bleiben konnte.

Zusammenfassung.

Am überlebenden Kaninchendünndarm läßt es sich nachweisen, daß das zur umspülenden Tyrodelösung gefügte Adrenalin auch nach abgeklungener Hemmung in wirkungsfähiger Konzentration vorhanden ist.

Wird die adrenalinhaltige Lösung mit frischer Tyrodelösung ersetzt, so zeigt sich am Darm eine vorübergehende Erregung.

Dies alles macht es wahrscheinlich, daß auch die Wirkungen des Adrenalins durch Veränderungen seiner Konzentration ausgelöst werden. Die Sympathicusreizung am Darm ist daher eine *Augmentationswirkung*. Die *Diminutionswirkung* des Adrenalins besteht am Kaninchendünndarm in einer Erregung, am Katzendünndarm Erregung oder Hemmung.

Die Adrenalin-konservierende Eigenschaft der Gewebsextrakte läßt sich am isolierten Darm einfach erweisen.

---

[1]) *Langlois* und *Athanasiu*, C. r. soc. biol. **49**, 575, 1897.

Jodzahlbestimmungen an Cholesterin.

Von

H. Dam.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 29. August 1924.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Bekanntlich ergeben Cholesterin und andere Sterine bei den üblichen Jodzahlbestimmungsverfahren Werte, die von den theoretischen stark abweichen und von den Versuchsbedingungen sehr abhängig sind.

Die Jodzahl des reinen Cholesterins wurde zuerst 1892 von *Lewkowitsch*[1]) bestimmt. Er fand mittels des *Hübl*schen Verfahrens zufälligerweise die Jodzahlen 67,3 und 68,09, die in der Nähe der aus der damals angenommenen Cholesterinformel berechneten Jodzahl 68,3 lagen.

Später fand *Herbig*[2]) unabhängig von *Lewkowitsch*, daß die Jodzahl des Cholesterins sich bei *Hübls* Verfahren mit der Reaktionszeit und dem Halogenüberschuß veränderte. Er wies nach, daß man durch Anwendung einer gewissen Reaktionszeit (6 bis 10 Stunden) und eines bestimmten Halogenüberschusses (50 bis 80 Proz. der totalen Halogenmenge) Jodzahlen reproduzieren konnte, die in der Nähe der theoretischen (65,6) lagen. Auf diesem Verhältnis wollte er ein Verfahren zur Bestimmung des Cholesterins in Wollfett gründen. *Henriques*[3]) kritisierte dies Verfahren und wandte unter anderem ein, daß eine Methode, die binnen der verwendeten Reaktionszeit nicht zur Sättigung mit Halogen führe, immer verwerflich sein müsse. *Marcusson*[4]) fand 1907 mittels *Wijs'* und *Wallers* Reagenzien für reines Cholesterin die Jodzahlen 109,4 bzw. 29,4. *P. Werner*[5]) (1911) prüfte unter anderem *Lewkowitschs* Zahlen durch eine Reihe von Bestimmungen an Cholesterin mittels *Hübls* Reagens nach und fand, daß die Jodzahlen mit der Zeit und der Halogenmenge schwankten. Die höchste von *Werner* gefundene Zahl war 80 nach dem Verlauf von 3 Wochen. Einige Bestimmungen an Cholesterin und Phytosterin mittels *Wijs'* Reagens, alle mit demselben Halogenüberschuß und derselben Reaktionszeit, ergaben beinahe identische Werte (etwa 135), die aber viel größer waren als die *Hübl*schen Zahlen. Schließlich versuchte *Werner* ohne Erfolg durch *Hübls* und *Wijs'* Verfahren ein Chlorjod-Additionsprodukt in reinem Zustande zu gewinnen.

---

1) *J. Lewkowitsch*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **25**, 1, 65—66, 1892.
2) *W. Herbig*, Dinglers polytechn. Journ. **302**, 17—23, 1896.
3) Revue über die Fett- und Harzindustrie **3**, 345, 1896.
4) Mitteilungen aus dem kgl. Materialprüfungsamt **25**, 128, 1907.
5) *P. Werner*, Beiträge zum Nachweis von Beimischungen tierischen Fettes zu Pflanzenfett. Dissertation, Technische Hochschule, Berlin 1911.

1921 veröffentlichten *Ida Smedley Mac Lean* und *Ethel Mary Thomas*[1]) eine Reihe von Jodzahlbestimmungen nach *Wijs* und *Hübl* an Sterinen, Harzen und einigen anderen Stoffen. Von Sterinen wurden Cholesterin, Koprosterin, Brassikasterin und Ergosterin untersucht. Betreffend das Cholesterin haben diese Analytiker einige Versuchsreihen über die Veränderung der Jodzahl mit der Halogenmenge, Zeit und Temperatur angestellt. Der Vergleichbarkeit wegen benutzten sie dieselbe Reaktionszeit (24 Stunden) bei *Hübls* und *Wijs'* Verfahren, während die Reaktionszeit bei *Wijs'* Verfahren in der Praxis nur ½ bis 2 Stunden beträgt. Diese Untersuchungen bestätigen im wesentlichen *Werners* Befunde, insofern sie ergeben, daß die Jodzahl des wasserfreien Cholesterins nach *Hübl* bei der gewöhnlichen Reaktionszeit von 24 Stunden und bei Verwendung von 0,1 g Cholesterin (wasserhaltig) und 15 ccm Reagens zwischen 75 und 80 liegt und mit der verwendeten Halogenmenge sowie mit der Temperatur des Zimmers etwas anwächst. Wenn die Reaktionszeit über 18 Stunden beträgt, wird die Jodzahl von der Zeit nur wenig beeinflußt. Beim *Wijs*schen Verfahren erhält man mit 24 Stunden Reaktionszeit Zahlen, die zwei- bis dreimal so groß sind wie die *Hübl*schen und viel mehr von der Zeit, Halogenmenge und Temperatur beeinflußt werden. 1923 veröffentlichten *Rosenmund* und *Kuhnhenn*[2]) eine neue Methode zur Bestimmung der Jodzahl, nämlich bei Verwendung von Pyridinsulfat-dibromid, das sich als ein mildes Halogenierungsmittel erwiesen hat und somit nur in geringem Maße Substitution und Oxydation herbeiführt. Das Reagens besteht aus einer Lösung von 8 g Pyridin, 10 g konzentrierter Schwefelsäure und 8 g Brom in Eisessig bis 1 Liter. Der zu untersuchende Stoff wird in 10 ccm Chloroform gelöst, mit 20 ccm Reagens versetzt, das Gemisch umgeschüttelt und 5 Minuten der Ruhe überlassen. Nach Zusatz von Kaliumjodid wird mit Thiosulfat titriert. Der Halogenüberschuß soll gewöhnlich etwa 25 Proz. der theoretisch erforderlichen Halogenmenge betragen. *Rosenmund* und *Kuhnhenn* haben ihre Methode an Cholesterin geprüft und gefunden, daß die dadurch ermittelten Jodzahlen dem theoretischen Wert (65,6) sehr nahe kommen. Wenn der Halogenüberschuß mehr als 25 bis 43 Proz. der theoretischen Menge beträgt, soll die Pyridinsulfatdibromidmethode auch zu große Zahlen ergeben.

Ein den Jodzahlmethoden verwandtes Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Cholesterin wurde 1892 von *Obermüller*[3]) vorgeschlagen. Nach diesem Verfahren titriert man das Cholesterin in Schwefelkohlenstoff gelöst mit einer Lösung von Brom in Schwefelkohlenstoff, bis die vom überschüssigen Brom herrührende gelbe Farbe stehen bleibt.

Die im folgenden mitgeteilten Untersuchungen beziehen sich auf die Methoden von *Hübl*, *Waller*, *Wijs*, *Hanuš* und *Winkler*, sowie auf die Pyridinsulfatbromidmethode und *Obermüllers* Titrierungsverfahren. Der Zweck war die Beschaffung einer Übersicht über die Veränderung der Jodzahl des reinen, wasserfreien Cholesterins mit dem Halogen-

---

[1]) *Ida Smedley Mac Lean* and *Ethel Mary Thomas*, Biochem. Journ. 15, 319—333, 1921.

[2]) *K. W. Rosenmund* und *W. Kuhnhenn*, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **46**, 154—159, 1923.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**, 149—151, 1892.

überschuß und der Zeit, wenn man übrigens die in der Praxis üblichen Vorschriften befolgt.

Zur Berechnung der Jodzahlen diente in allen Fällen die Formel

$$\frac{B-P}{C} \cdot 1{,}27,$$

wo B = der Anzahl Kubikzentimeter n/10 $Na_2S_2O_3$ ist, die von einer jeden Versuch begleitenden Blindprobe nach Ablauf der Reaktionszeit verbraucht wurde,

P = der Anzahl Kubikzentimeter n/10 $Na_2S_2O_3$ ist, die von der Probe verbraucht wurde, und

C = der Cholesterinmenge in Grammen ist.

Der Halogenüberschuß ist im folgenden überall in Prozenten der theoretisch erforderlichen Jodmenge angegeben (65,6 g Jod pro 100 g Cholesterin).

1. Hübls Verfahren.

Reagens: Etwa 25 g Jod und etwa 30 g Mercurichlorid je in 96 Vol.-Proz. Alkohol bis 500 ccm gelöst.

a) Variation des Halogenüberschusses bei 24 Stunden Reaktionszeit. Zu jeder Probe: eine abgewogene Menge Cholesterin + 20 ccm Chloroform + 25 ccm Reagens (3 Tage vor dem Gebrauch gemischt). Umschütteln, Aufbewahrung in einem dunklen Schrank bis zum Titrieren.

Cholesterin g	Halogen-überschuß Proz.	Jodzahl	Cholesterin g	Halogen-überschuß Proz.	Jodzahl
0,6280	46,0	65,1	0,2690	238,2	79,9
0,4710	94,2	74,4	0,2353	286,2	80,2
0,3770	142,5	78,3	0,1885	379	81,1
0,3140	190,8	79,6	0,1570	460	80,7

Die Zahlen sind in Abb. 1 in Kurvenform dargestellt. Es ist ersichtlich, daß bei Halogenüberschüssen über 200 Proz. hinaus die Jodzahlen einigermaßen konstant sind und in der Nähe von 80 liegen. Dieser Befund stimmt mit den Angaben *Smedley Mac Leans* und *E. M. Thomas'* überein.

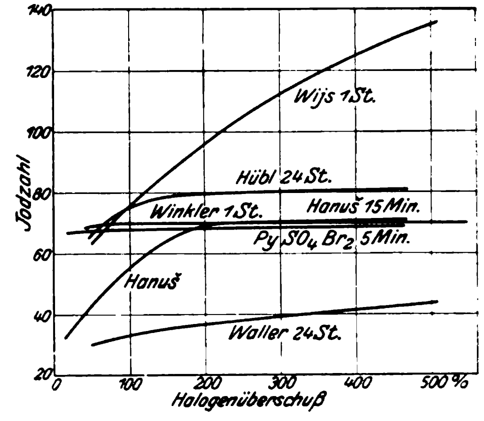


Abb. 1.

b) Variation der Zeit. Der aus der Blindprobe nach 22 Stunden 54 Minuten be-

rechnete Halogenüberschuß war 64,3 Proz. Zu jeder Probe: 20 ccm einer Cholesterin-Chloroformlösung mit 2,800 g Cholesterin pro 100 ccm + 25 ccm Reagens (neue Portion). Umschütteln, Aufbewahrung in einem dunklen Schrank.

Zeit		Jodzahl	Zeit		Jodzahl
Stunden	Minuten		Stunden	Minuten	
0	31	49,4	22	54	77,2
3	46	61,8	44	20	80,6
7	44	68,5	66	43	82,6
18	0	75,4			

Die Zahlen sind in Abb. 2 in Kurvenform dargestellt. Im Laufe der ersten 10 Stunden wächst die Jodzahl sehr schnell, dann etwas langsamer, ohne einen ganz konstanten Wert zu erreichen. Die Jodzahl nach 24 Stunden liegt hier etwas höher als in der vorigen Versuchsreihe, vielleicht wegen einer höheren Temperatur des Zimmers.

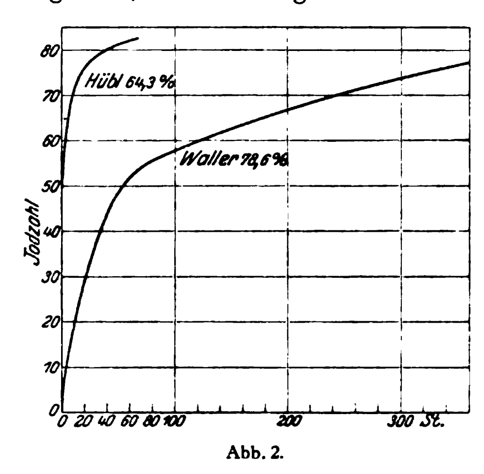


Abb. 2.

2. Wallers Verfahren.

Reagens: Wie das von *Hübl* + 50 ccm konzentrierter Salzsäure pro Liter nach dem Vermischen.

a) Variation des Halogenüberschusses bei 24 Stunden Reaktionszeit. Zu jeder Probe: eine abgewogene Menge Cholesterin + 20 ccm Chloroform + 25 ccm Reagens. Umschütteln, Aufbewahrung in einem dunklen Schrank.

Cholesterin g	Halogen-überschuß Proz.	Jodzahl	Cholesterin g	Halogen-überschuß Proz.	Jodzahl
0,5900	50,5	30,1	0,2200	303,3	39,50
0,4400	101,8	33,02	0,1770	401,8	40,6
0,3500	153,7	35,25	0,1470	503	44,2
0,2900	205,9	37,05			

Die Zahlen sind in Abb. 1 in Kurvenform dargestellt. Die Jodzahl wächst ständig etwas mit dem Halogenüberschuß.

b) Variation der Zeit. Der aus der Blindprobe nach 22 Stunden berechnete Halogenüberschuß war 78,6 Proz. Zu jeder Probe: 20 ccm einer Cholesterin-Chloroformlösung mit 2,500 g Cholesterin pro 100 ccm

+ 25 ccm Reagens. Umschütteln, Aufbewahrung bei Tageslicht, vor direktem Sonnenlicht geschützt.

Zeit		Jodzahl	Zeit		Jodzahl
Stunden	Minuten		Stunden	Minuten	
22	0	30,15	310	28	74,4
70	0	54,2	410	20	79,3
142	20	61,8			

Die Zahlen sind in Abb. 2 in Kurvenform dargestellt. Man sieht, daß *Wallers* Reagens hier wie im allgemeinen viel langsamer wirkt als das Reagens von *Hübl*, und daß die Zunahme der Jodzahl in den ersten 50 Stunden am größten ist. Ein konstanter Wert wird binnen der ganzen Versuchszeit nicht erreicht. Der Wert nach 24 Stunden stimmt mit der von *Marcusson* angegebenen Zahl (29,4) überein.

3. Wijs' Verfahren.

Reagens: Etwa 9,4 g Jodtrichlorid und 7,2 g Jod in Eisessig bis 1 Liter gelöst.

a) Variation des *Halogenüberschusses* bei 1 Stunde Reaktionszeit. Zu jeder Probe: eine abgewogene Menge Cholesterin + 20 ccm Tetrachlorkohlenstoff + 25 ccm Reagens. Umschütteln, Aufbewahrung bei Tageslicht, vor direktem Sonnenlicht geschützt.

Cholesterin g	Halogenüberschuß Proz.	Jodzahl	Cholesterin g	Halogenüberschuß Proz.	Jodzahl
0,6330	50,6	63,2	0,2710	251,8	105,0
0,4740	100,9	76,0	0,2370	302	112,6
0,3790	151,3	85,7	0,1895	403	125,1
0,3160	201,3	96,7	0,1580	504	135,3

Die Zahlen sind in Abb. 1 in Kurvenform dargestellt.

Die Jodzahl steigt sehr stark mit dem Halogenüberschuß im ganzen Versuchsintervall (50 bis 500 Proz.) und übertrifft die theoretische Zahl (65,6) sehr beträchtlich.

b) Variation der Zeit. 1. Der aus der Blindprobe nach 1 Stunde 7 Minuten berechnete Halogenüberschuß war 68,6 Proz. Zu jeder Probe: 20 ccm einer Cholesterin-Tetrachlorkohlenstofflösung mit 2,5 g Cholesterin pro 100 ccm + 25 ccm Reagens. Umschütteln, Aufbewahrung bei Tageslicht, vor direktem Sonnenlicht geschützt.

Minuten	Jodzahl	Minuten	Jodzahl
5	63,3	67	65,6
15	64,4	162	65,2
30	65,6		

Die Zahlen sind in Abb. 3 in Kurvenform dargestellt. Die Jodzahl, die in den ersten 30 Minuten etwas steigt, hält sich danach konstant, wenigstens etwa 2 Stunden.

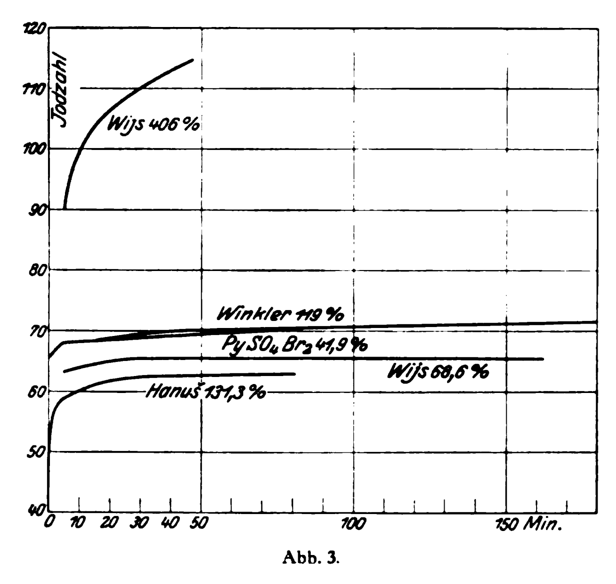


Abb. 3.

2. Der aus der Blindprobe nach 45 Minuten berechnete Halogenüberschuß war 406 Proz. Zu jeder Probe: 20 ccm einer Cholesterin-Tetrachlorkohlenstofflösung mit 0,8325 g Cholesterin pro 100 ccm + 25 ccm Reagens.

Minuten	Jodzahl	Minuten	Jodzahl
5	90,8	29	109,9
12	102,0	45	114,1

Die Zahlen sind in Abb. 3 in Kurvenform dargestellt. Es ist ersichtlich, daß bei Verwendung eines großen Halogenüberschusses die Zeitkurve sehr steil ist.

4. Hanuš' Verfahren.

Reagens: Etwa 20 g Jodmonobromid in Eisessig bis 1 Liter gelöst. Die Herstellung des Jodmonobromids erfolgte durch Zutropfenlassen von etwas mehr als 8 g Brom zu 12,7 g Jod in einem Kolben auf 50° heißem Wasserbade. Nach 10 bis 15 Minuten wurde das überschüssige Brom in Dampfform durch Zuleitung eines Kohlendioxydstromes abgeblasen.

a) Variation des Halogenüberschusses bei 15 Minuten Reaktionszeit. Zu jeder Probe: eine abgewogene Cholesterinmenge + 10 ccm

Chloroform + 15 ccm Reagens. Umschütteln, Aufbewahrung bei Tageslicht, vor direktem Sonnenlicht geschützt. Die Verwendung einer verhältnismäßig geringen Menge des Reagens war nötig, um nicht zu viel Cholesterin zu verbrauchen.

Cholesterin g	Halogenüberschuß Proz.	Jodzahl	Cholesterin g	Halogenüberschuß Proz.	Jodzahl
0,4630	14,3	32,12	0,1655	222,6	69,6
0,3860	38,5	38,53	0,1447	269,4	70,0
0,2893	84,5	52,1	0,1158	362	71,2
0,2316	130,8	61,0	0,0965	454	71,2
0,1930	177,0	67,8			

Die Zahlen sind in Abb. 1 in Kurvenform dargestellt. Die Jodzahl steigt beträchtlich, wenn der Halogenüberschuß weniger als 200 Proz. beträgt. Bei größeren Halogenüberschüssen liegt die Jodzahl einigermaßen konstant bei 70.

b) Variation der Zeit. Der aus der Blindprobe nach 15 Minuten berechnete Halogenüberschuß war 131,3 Proz. Zu jeder Probe: 10 ccm einer Cholesterin-Chloroformlösung mit 2,320 g Cholesterin pro 100 ccm + 15 ccm Reagens. Umschütteln, Aufbewahrung bei Tageslicht, vor direktem Sonnenlicht geschützt.

Minuten	Jodzahl	Minuten	Jodzahl
„0"[1])	48,0	30	62,3
5	59,0	45	62,6
10	60,0	60	62,6
15	61,2	80	62,8
20	61,8		

Die Zahlen sind in Abb. 3 in Kurvenform dargestellt. Es ist ersichtlich, daß die Jodzahl innerhalb der ersten 5 Minuten am stärksten wächst und nach etwa 30 Minuten beinahe konstant wird. Nach Ablauf der üblichen Reaktionszeit, 15 Minuten, ist die Jodzahl jedoch dem konstanten Werte ziemlich nahe.

5. Winklers Verfahren.

Reagens: Etwa m/60 wässerige Lösung von Kaliumbromat.

a) Variation des Halogenüberschusses bei 1 Stunde Reaktionszeit. Zu jeder Probe: eine abgewogene Cholesterinmenge + 10 ccm Tetrachlorkohlenstoff + 30 ccm Reagens + 10 ccm 10proz. Salzsäure + etwa 1 g festes Kaliumbromid. Umschütteln, Aufbewahrung in einem dunklen Schrank unter dreimaligem Umschütteln mit etwa 5 Minuten Zwischenraum, um alles Kaliumbromid in Lösung zu bringen.

[1]) „0" bedeutet, daß der Zusatz von Kaliumjodidlösung so schnell wie möglich nach dem Umschütteln erfolgte.

Cholesterin g	Halogen-überschuß Proz.	Jodzahl	Cholesterin g	Halogen-überschuß Proz.	Jodzahl
0,3800	42,7	68,7	0,1500	261,0	69,9
0,2800	93,5	69,8	0,1200	351,5	70,0
0,2300	135,5	69,9	0,0850	537	69,1
0,1900	184,9	69,8			

Die Zahlen sind in Abb. 1 in Kurvenform dargestellt. Bei Halogenüberschüssen von über 100 Proz. ist die Jodzahl beinahe konstant (69 bis 70).

b) Variation der Zeit. Der aus der mittleren Zahl der Blindproben berechnete Halogenüberschuß war 119 Proz. Zu jeder Probe: 10 ccm einer Cholesterin-Tetrachlorkohlenstofflösung mit 2,500 g Cholesterin pro 100 ccm + 30 ccm Reagens + etwa 1 g festes Kaliumbromid. Umschütteln, Aufbewahrung in einem dunklen Schrank unter wiederholtem Umschütteln.

Minuten	Jodzahl	Minuten	Jodzahl
5	68,2	120	70,6
30	69,2	180	72,1
60	70,1	240	72,3
90	70,3		

Die Zahlen sind in Abb. 3 in Kurvenform dargestellt. Die Jodzahl wächst etwas mit der Zeit, hält sich jedoch in der Nähe von 70 bei Reaktionszeiten zwischen 15 Minuten und 4 Stunden.

6. Das Pyridinsulfat-dibromidverfahren.

Reagens: 8 g Pyridin, 10 g konzentrierter Schwefelsäure und 8 g Brom in Eisessig auf 1 Liter gelöst.

a) Variation des Halogenüberschusses bei 5 Minuten Reaktionszeit. Zu jeder Probe: eine abgewogene Menge Cholesterin + 10 ccm Chloroform + 20 ccm Reagens. Umschütteln, Aufbewahrung bei Tageslicht vor direktem Sonnenlicht geschützt.

Cholesterin g	Halogen-überschuß Proz.	Jodzahl	Cholesterin g	Halogen-überschuß Proz.	Jodzahl
0,0641	448	68,6	0,1538	126,8	68,2
0,0769	360,7	69,0	0,1920	81,4	67,5
0,0960	265	68,4	0,2195	58,6	67,4
0,1093	221	68,3	0,2560	35,2	67,2
0,1280	173	68,1	0,2955	15,85	67,0

Die Zahlen sind in Abb. 1 in Kurvenform dargestellt. Die Jodzahl ist einigermaßen konstant zwischen 67 und 69 im ganzen Versuchsintervall.

b) Variation der Zeit. Der aus der Blindprobe nach 5 Minuten berechnete Halogenüberschuß war 41,9 Proz. Zu jeder Probe: 10 ccm einer Cholesterin-Chloroformlösung mit 2,510 g Cholesterin pro 100 ccm + 20 ccm Reagens. Umschütteln, Aufbewahrung bei Tageslicht, vor direktem Sonnenlicht geschützt.

Minuten	Jodzahl	Minuten	Jodzahl
0	65,9	20	68,4
1	66,3	35	69,1
2	67,0	55	69,4
5	68,2	80	70,3
10	68,4		

Die Zahlen sind in Abb. 3 in Kurvenform dargestellt. Die Jodzahl erreicht momentan den theoretischen Wert und steigt danach einige Einheiten. Die Zunahme ist am größten in den ersten 5 Minuten.

Die Ergebnisse dieses Verfahrens stimmen mit den Angaben von *Rosenmund* und *Kuhnhenn* überein.

7. Obermüllers Titrierungsverfahren.

Titerflüssigkeit: eine Lösung von 5 ccm Brom in 500 ccm Schwefelkohlenstoff (*Mercks* Schwefelkohlenstoff gereinigt). Einstellen durch Zusatz von Kaliumjodid und Titration mit Thiosulfat.

Das Cholesterin wurde in Schwefelkohlenstoff gelöst und die Titerflüssigkeit aus einer Bürette mit Glashahn zugesetzt.

Bereits bevor die theoretische Brommenge zugesetzt war, zeigte sich eine gelbe Farbe, die erst nach einiger Zeit verschwand. Beim Zusatz von mehr Bromlösung vermochte die neu auftretende gelbe Farbe sich noch länger zu halten, und es konnte kein scharfer Farbenumschlag konstatiert werden.

Ersatz des Schwefelkohlenstoffs durch Tetrachlorkohlenstoff resultierte in einen etwas besseren Farbenumschlag, der aber noch so unscharf war, daß dies Verfahren nicht empfehlenswert scheint.

Zusammenfassung.

Hübls Verfahren ergibt bei der üblichen Reaktionszeit von 24 Stunden und mindestens 150 Proz. Halogenüberschuß einigermaßen konstante Jodzahlen in der Nähe von 80, während die bei Verwendung von Halogenüberschüssen in der Nähe der gewöhnlichen Minimalgrenze von 50 Proz. erhaltenen Jodzahlen der theoretischen Zahl (65,6) näher liegen. Eine Verkürzung oder Verlängerung der Reaktionszeit um 1 Stunde verrückt die Jodzahl nur um etwa eine Einheit, wenn der Halogenüberschuß nicht sehr groß ist.

Wallers Verfahren ergibt bei der gewöhnlichen Reaktionszeit von 24 Stunden Jodzahlen, die nur etwa die Hälfte der theoretischen Zahl betragen und mit Zeit und Halogenmenge nicht unbeträchtlich wachsen.

Wijs' Verfahren ergibt bei einer Reaktionszeit von einer Stunde (einer Zeit, die innerhalb der üblichen Zeitgrenzen liegt) Jodzahlen, die mit dem Halogenüberschuß außerordentlich stark wachsen. Die Jodzahl ändert sich nur wenig mit der Zeit, wenn der Halogenüberschuß klein ist, bei großen Halogenüberschüssen dagegen stark. *Wijs'* Verfahren scheint somit zur Untersuchung von cholesterinreichen Stoffen am wenigsten geeignet zu sein.

Im Gegensatz zu *Hübls*, *Wallers* und *Wijs'* Verfahren ergeben *Hanuš'* und *Winklers* Verfahren sowie *das Pyridinsulfatdibromidverfahren* bei angemessenen Halogenüberschüssen auffallend naheliegende Werte, welche die theoretische Zahl nur wenig übertreffen.

Bei *Hanuš' Verfahren* ist ein verhältnismäßig großer Halogenüberschuß (etwa 200 Proz.) erforderlich, um bei der gewöhnlichen Reaktionszeit von 15 Minuten eine von der Halogenmenge beinahe unabhängige Jodzahl zu erhalten. Bei Halogenüberschüssen in der Nähe der gewöhnlichen Minimalgrenze wächst die Jodzahl am meisten in den ersten 10 Minuten, und die Zunahme ist nach 30 Minuten beinahe Null. Der Einfluß der Reaktionszeit ist nach etwa 15 Minuten jedoch nur klein.

Winklers Verfahren wird im Vergleich mit dem von *Hanuš* viel weniger von dem Halogenüberschuß beeinflußt, insofern es bei einer Reaktionszeit von einer Stunde Jodzahlen liefert, die von dem Halogenüberschuß beinahe unabhängig sind, wenn derselbe nur über 60 Proz. liegt. In der Nähe dieser Minimalgrenze variiert die Jodzahl nur wenig mit der Reaktionszeit.

Das *Pyridinsulfatdibromidverfahren* erfordert den geringsten Halogenüberschuß, um bei einer Reaktionszeit von 5 Minuten von dem Halogenüberschuß beinahe unabhängige Jodzahlen zu ergeben. Die Zeitabhängigkeit ist bei kleinen Halogenüberschüssen nur gering. Da ferner die durch das Pyridinsulfatdibromidverfahren erhaltenen Jodzahlen nur wenige Einheiten über dem theoretischen Wert liegen, scheint dieses Verfahren zur Untersuchung von cholesterinreichen Stoffen besonders geeignet zu sein.

Über die Rolle des Kohlensäureanhydrids in Bakterienkulturen.

Von

S. Sierakowski und R. Zajdel.

(Aus dem staatlichen Institut für Hygiene in Warschau.)

(Eingegangen am 30. August 1924.)

In einer früheren Arbeit zeigte einer von den Verfassern (*Sierakowski*), daß flüchtige Säuren und insbesondere CO_2, welche die Bakterien ausscheiden, die Rolle eines Regulators der Wasserstoffionenkonzentration in den Bakterienkulturen und damit im Stoffwechsel spielen.

Ausgehend von dieser Tatsache, haben wir eine Arbeit über die Bedeutung des CO_2 für die Bakterienentwicklung unternommen. In der oben erwähnten Mitteilung wurde gezeigt, daß nicht zuckerhaltige Nährböden während der Bakterienentwicklung alkalisch werden, wenn die flüchtigen Säuren und insbesondere CO_2 entweichen können. Werden dagegen die Kulturen luftdicht abgeschlossen, so alkalisieren sie die Nährböden nicht; sie erreichen den Punkt p_H 6,8 (Bact. coli) und bleiben dann ohne Veränderung. Daß hier wirklich die flüchtigen Säuren in Betracht kommen, dafür spricht der Versuch, daß, wenn zu luftdicht verschlossenen Kulturen Natronkalk zugesetzt wird, die Nährböden sogar schneller alkalisch werden als in den offenen Kulturen, denn die flüchtigen Säuren und insbesondere CO_2 werden gebunden.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die luftdicht abgeschlossenen Kolikulturen (es bleiben allerdings noch 20 ccm Luft auf 10 ccm Nährboden) schwach alkalische Nährböden bis zum Punkte p_H 6,8 ansäuern. Es war von Interesse zu untersuchen, wie sich das p_H der luftdicht abgeschlossenen Kulturen mit verschiedenen Ausgangspunkten von p_H ändern wird. Zu diesem Zwecke nahmen wir saure sowie alkalische Nährböden von p_H 5,2 bis 9,6 und beschickten sie mit Bact. coli.

Tabelle I.

p_H vor der Aussaat	p_H nach einem Monat	p_H vor der Aussaat	p_H nach einem Monat
5,2	5,2	7,0	6,8
5,4	5,6	7,3	6,9
5,6	5,9	7,5	6,8
5,8	6,8	7,8	6,8
6,0	6,8	8,4	6,8
6,4	6,8	8,6	7,0
6,6	6,9	9,0	7,4
6,8	6,9		

Nach einem Monat erreichten die luftdicht abgeschlossenen Kulturen das p_H 6,8, und zwar desto schneller, je näher diesem Punkte das Ausgangs-p_H des Nährbodens war. In stark alkalischen Nährböden, wo die Bakterienentwicklung sehr schwach war, erreichten die Kulturen p_H 7,4. Die sauren Nährböden erreichten p_H 6,8, wenn der Ausgangspunkt höher als 6,4 war; die noch saureren Nährböden wurden ein wenig alkalisch, aber den Punkt 6,8 erreichten sie nicht.

Das bedeutet, daß die luftdicht abgeschlossenen Kolikulturen unabhängig vom Ausgangs-p_H den Punkt p_H 6,8 erreichen, eine Ausnahme bilden nur die stark sauren und alkalischen Nährböden, auf denen das Bakterienwachstum stark gehemmt ist.

Es ist bekannt, daß Kolikulturen in gewöhnlichen (nicht zuckerhaltigen) Nährböden alkalisch werden und nach einer Zeit, unabhängig vom Ausgangs-p_H, den Punkt 8,9 erreichen. Es ist auch bekannt, daß Kolikulturen in geeigneten zuckerhaltigen Nährböden sauer werden und nach einer gewissen Zeit den Punkt 4,7 bzw. 4,9 erreichen, wobei die Ausgangsacidität irrelevant ist.

Aus den oben mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß *luftdicht abgeschlossene Kolikulturen, welche keinen Abfluß für die flüchtigen Säuren haben, in nicht zuckerhaltigen Nährböden, unabhängig vom Ausgangs-p_H, den Punkt 6,8 erreichen.*

Das wäre das dritte charakteristische Merkmal für die Bakterienkulturen.

Die Säuerung kommt auch dann zustande, wenn man die Nährböden nicht gleich nach der Impfung, sondern erst nach zwei- bis dreitägiger Bebrütung luftdicht abschließt. Die folgenden Versuche beschäftigen sich mit der Frage, ob die Zeit, welche von der Impfung bis zum Verschluß der Flaschen verstreicht, von Bedeutung ist.

Zu diesem Zwecke legten wir eine Reihe von Bouillonkulturen an, von denen eine Serie gleich nach der Beschickung, die zweite nach einem Tage, die dritte nach zwei Tagen usw. luftdicht abgeschlossen wurde.

Die Ergebnisse waren folgende: Kulturen, welche nach ein-, zwei-, drei-, viertägiger Bebrütung luftdicht abgeschlossen wurden, waren im Verlauf von 24 Stunden bis zum Punkte p_H 6,8 angesäuert; die fünftägigen und älteren Kulturen waren von den Bakterien nicht angesäuert. Dieses Phänomen beruht wahrscheinlich darauf, daß in den jungen Kulturen während der Bakterienentwicklung reichlich CO_2 produziert wird, welche bei hermetischem Abschluß nicht entweichen kann und auf diese Weise das Ansäuern des Nährbodens verursacht. In älteren Kulturen, wo die Bakterien fast am Absterben sind, wird so wenig CO_2 ausgeschieden, daß ihre Menge nicht genügt, um den Nährboden anzusäuern. Um diese Frage aufzuklären, haben wir den Zusammenhang zwischen dem Säuregrad des Nährbodens in den Bakterienkulturen, nachdem sie luftdicht abgeschlossen wurden, und der Zahl der entwicklungsfähigen Bakterien untersucht. Zu diesem Zwecke haben wir eine Reihe Röhrchen mit 2proz. Peptonwasser von p_H 8,2 mit Bact. coli beschickt. Je 24 Stunden wurde eine von den Kolikulturen luftdicht abgeschlossen. Vor und nach dem Abschluß war genau das p_H und die Zahl der entwicklungsfähigen Bakterien bestimmt. Zur Kontrolle dienten unter denselben Bedingungen bebrütete, nicht luftdicht abgeschlossene Kulturen. In den ersten zwei Tagen läßt sich ein ziemlich üppiges Wachstum feststellen; die steigende Bakterienzahl und die Ansäuerung des Nährbodens ist ein Beweis dafür, daß die Bakterien lebendig und zur Weiterentwicklung fähig sind. Am dritten und vierten Tage vermindert sich etwas der Säuregrad des Nährbodens, obwohl die Zahl der ausgewachsenen Kolonien nicht kleiner, aber auch nicht größer ist — 240 Kolonien. Die Kultur hat in ihrer Entwicklung den Kulminationspunkt erreicht, jetzt beginnt der Rückgang, das allmähliche Absterben der Kultur. Am sechsten Tage nach dem Luftabschluß der Kultur, wenn keine Veränderung in dem Säuregrad des Nährbodens zu beobachten war, notierten wir eine plötzliche Herabsetzung der entwicklungsfähigen Bakterien (von 240 auf 46).

Hier stehen wir vor der Tatsache des allmählichen Absterbens der Bakterien, welche die CO_2 ausscheiden und die Ansäuerung der luftdicht abgeschlossenen Kulturen bedingen. Die Untersuchungen dauerten etwa einen Monat, einige Röhrchen wurden erst nach einigen Wochen sauer. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß man an *den Veränderungen der H-Ionenkonzentration die Lebensfähigkeit der Bakterien in luftdicht abgeschlossenen Kulturen beurteilen kann.*

Eine in voller Entwicklung sich befindende Bakterienkultur wird von den Bakterien angesäuert, das Ausbleiben der Ansäuerung kann als Zeichen des Absterbens der Kultur betrachtet werden. Manchmal ist die Ansäuerung der Bakterienkultur noch vor der Trübung des Nährbodens zu beobachten.

Wir suchten noch festzustellen, bis zu welchem Punkte p_H luftdicht abgeschlossene Kulturen anderer Bakterienarten angesäuert werden.

Verschiedene Bakterienarten wurden in 2proz. Peptonwasser von p_H 7,5 gezüchtet. Zum Nährboden wurde ein geeigneter Indikator zugefügt. Eine Kultur von jeder Bakterienart wurde gleich nach der Beschickung abgeschlossen, die zweite zur Kontrolle offen gelassen. Die Tabelle II zeigt uns, daß alle Bakterienarten ohne Ausnahme die luftdicht abgeschlossenen Kulturen ansäuern, während die offenen alkalisch werden.

Tabelle II.

Name der Bakterien	p_H am nächsten Tage in der Bakterienkultur		p_H nach 5 Wochen in der Bakterienkultur	
	luftdicht geschlossen	m. Wattepfropfen geschlossen	luftdicht geschlossen	m. Wattepfropfen geschlossen
Ruhrbazillen, *Shiga* .	6,9	7,3	6,8	8,4
„ *Flexner*	6,9	7,3	6,8	8,4
Typhusbazillen . . .	6,9	7,3	6,6	8,4
Para-A-Bazillen . .	6,8	6,9	6,8	8,4
„ B „ . .	6,9	7,5	6,8	8,4
„ C „ . .	6,9	7,5	6,8	8,4
Kolibazillen	6,8	6,9	6,8	8,4
Cholera	6,9	7,3	6,7	8,4
Diphtheriebazillen . .	6,8	6,9	6,8	8,4
Proteus	6,9	6,9	6,3	8,4
Staphylokokken . .	7,3	7,4	6,8	8,4

Trotzdem wir mit verschiedenen Bakterienarten arbeiteten, war der Säuregrad beinahe gleich. Er beträgt für die Mehrheit der untersuchten Bakterien p_H 6,8. Für Typhusbazillen und Choleravibrionen etwas weniger, 6,6 bis 6,7, nur für Proteus X_{22} 6,1 bis 6,3. Es ergab sich die Frage, weshalb in unseren Versuchen der Punkt p_H mit solcher Konstanz auftritt, weshalb die Ansäuerung der luftdicht abgeschlossenen Kulturen bei dem p_H 6,8 stehen bleibt und nicht weitergeht, und weshalb die Mehrheit der Bakterienarten gerade bis zu diesem Punkte angesäuert wird. Die H-Ionenkonzentration kommt hier nicht in Betracht, denn sie ist nicht imstande, die Bakterienentwicklung zu hemmen. Eine gewisse Aufklärung in dieser Richtung gibt uns die nähere Betrachtung der Dissoziationskurve der CO_2.

Wenn wir die Kohlensäure in Betracht ziehen, müssen wir mit den Molekülen der hypothetischen H_2CO_3, welche rasch in H_2O und CO_2 zerfällt, sowie mit den Salzen dieser Säure, Bicarbonaten und Carbonaten rechnen. Carbonate treten nur in stark alkalischer Reaktion, welche in physiologischen Bedingungen nicht zu treffen ist, auf.

Unter physiologischen Bedingungen in physiologischen Flüssigkeiten haben wir mit Ionen HCO_3 und Molekülen CO_2 zu tun. Zwischen diesen muß Gleichgewicht bestehen. Die Beständigkeit des Gleichgewichts ist vom p_H des Mediums, in welchem sich die Moleküle befinden, abhängig. In saurem Medium überwiegen CO_2-Moleküle, in schwach alkalischem HCO_3-Ionen.

Es ist höchst charakteristisch, daß im Punkte p_H 6,7 die Zahl der HCO_3-Ionen der Zahl der Moleküle der CO_2 (*Michaelis*) gleicht und fernerhin, daß der Punkt p_H 6,7 der Kulminationspunkt im Rückgangsmoment der Dissoziationskurve der Kohlensäure ist; nach oben von diesem Punkte ist die Kurve konvex, nach unten konkav.

Dieser Punkt unterscheidet sich nur mit 0,1 vom Punkte 6,8, der in den Bakterienkulturen so eine wichtige Rolle spielt, wie wir das gesehen haben. Die Differenz 0,1 ist nicht wesentlich, sie liegt in den Grenzen der Versuchsfehler.

Also sehen wir, daß ein Zusammenhang zwischen Kohlensäuredissoziation und Bakterienkulturentwicklung besteht.

In Bakterienkulturen wird CO_2 als Atmungsprodukt ausgeschieden. Die luftdicht abgeschlossenen Kulturen werden von der CO_2, welche keinen Abfluß hat, angesäuert; weshalb das Ionenverhältnis von HCO_3 und CO_2 sich zugunsten der CO_2-Moleküle verschiebt. Endlich kommt der Moment, wo die HCO_3-Ionenzahl der CO_2-Moleküle gleicht. Auf diesem Punkte bleibt der Vorgang stehen. Es ist möglich, daß der steigende Säuregrad, bei dem die Zahl der CO_2-Moleküle rasch wächst, ungünstige Bedingungen für die Bakterienentwicklung schafft. Das geschieht eben im Punkte p_H 6,7, der dem Neutralpunkt sehr nahe liegt.

Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur.

II. Mitteilung:

Bestimmung kleinster Jodmengen.

Von

Th. v. Fellenberg.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes in Bern.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die früher[1]) angegebenen Methoden wurden etwas vereinfacht und verbessert. Prinzipielle Änderungen wurden nicht vorgenommen. Eine solche wurde zwar versucht, aber ohne den gewünschten Erfolg. Es handelt sich um die Jodbestimmungsmethode von *Mc Clendon*[2]). Dieser Autor verbrennt seine organischen Materialien nach Vorbehandlung mit Kalk in einem weiten Quarzrohr im Sauerstoffstrom. Das Rohr ist auf der einen Seite ausgezogen und nach abwärts gebogen. Der obere Teil der abgebogenen Partie ist mit einer Bleischlange umgeben, durch welche Kühlwasser fließt, der untere taucht in Natronlauge. Sowohl die Vorlage als der Verbrennungsrückstand wird auf Jod untersucht.

Meine Versuche führte ich in einem Rohr von 3,5 cm innerem Durchmesser aus. Sie scheiterten daran, daß trotz aller Vorsicht teerige Produkte, die noch Jod enthalten konnten, sich in dem abgebogenen, gekühlten Teil des Rohres ansetzten. Die vorgelegte Lauge war gelbbraun; es entwichen übelriechende Gase und selbst Rauch, die Resultate fielen unregelmäßig aus. Das Reinigen des Rohres nach jedem Versuch war sehr umständlich.

Neuerdings[3]) präzisiert *Mc Clendon* die Methode genauer, als es in der früheren Arbeit der Fall war. Er zitiert hier auch ein privates Schreiben, welches ich am 19. Oktober 1923 an ihn richtete und in welchem ich, übrigens in Übereinstimmung mit meinen früheren Publikationen, zugab, daß ich noch nicht über alle Schwierigkeiten bei der Jodbestimmung herausgekommen sei. Ich hatte damals ziemliche Hoffnungen auf *Mc Clendons* Methode gesetzt, bin aber, wie gesagt, enttäuscht worden und zog dann doch vor, das eigene Verfahren weiter auszubauen.

---

[1]) Diese Zeitschr. **139**, 391, 1923.

[2]) *Mc Clendon*, The determination of iodine in iodinemetabolism; Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine **20**, 351–352, 1923.

[3]) *Derselbe*, The determination of iodine in food, drink and excreta, The Journal of Biological Chemistry **60**, 289–299, 1924.

Damit möchte ich nun durchaus nicht gegen die Methode von *Mc Clendon* auftreten. Daß sie richtige Resultate liefern kann, beweisen am besten die wertvollen Untersuchungen dieses Autors. Nur scheint es mir, daß sie nicht leicht zu erlernen und recht langwierig und umständlich in der Ausführung ist und eine kostspielige Apparatur erfordert. Die endgültige Bestimmung wird nur kolorimetrisch vorgenommen, während ich es für sicherer halte, bei etwas größeren Jodmengen stets der kolorimetrischen Messung eine Titration folgen zu lassen.

Bei der offenen Verbrennung, wie ich sie ausführe, besteht die Hauptfehlerquelle darin, daß überhitzt werden kann und daß dann Jod in Form von Alkalijodid entweicht, denn Alkalijodid ist bei heller Rotglut etwas flüchtig. Die Flüchtigkeit ist aber bei Gegenwart von viel Alkalihydroxyd oder -carbonat bedeutend geringer. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, ziemlich große Alkalimengen zu verwenden. Da aber ein Alkaliüberschuß die Verbrennung verzögert, wird vorerst nur vorsichtig verkohlt, dann die Kohle mit Wasser ausgezogen und der Rückstand für sich weiter verbrannt.

Der Jodnachweis wurde gegenüber früher noch etwas verschärft. Bei der kolorimetrischen Bestimmung muß ein bestimmtes Verhältnis zwischen der wässerigen Lösung und der Chloroformmenge eingehalten werden. Relativ zu kleine Chloroformmengen extrahieren das Jod zu unvollständig und haben ferner den Nachteil, daß das Chloroform zum Teil in der wässerigen Lösung gelöst bleibt. Nach unserer früheren Vorschrift (l. c.) wurde 1 ccm wässeriger Lösung, erhalten durch dreimaliges Auswaschen des geglühten Rückstandes in der Platinschale, mit mindestens 0,02 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Man konnte so 0,3 γ[1]) Jod noch deutlich wahrnehmen. Es wurde damals bemerkt, daß man „unter allergünstigsten Verhältnissen" noch 0,1 γ wahrnehmen könne. Diese günstigen Verhältnisse sind geschaffen, wenn man die Wassermenge erniedrigt, also die Konzentration erhöht. Da man aber mit weniger als 1 ccm Wasser eine Platinschale von 8 cm Durchmesser, wie ich sie verwende, nicht mehr quantitativ auswaschen kann, gehe ich nun so vor, daß ich den Schaleninhalt mit nur 0,3 ccm Wasser herausspüle und in ein Jodausschüttlungsröhrchen bringe, und den kleinen, in der Schale verbliebenen Rest der Lösung, wie unten angegeben, in Rechnung ziehe. Aus dieser kleinen Flüssigkeitsmenge kann man das Jod mit 0,01 ccm Chloroform ausschütteln und so noch 0,1 γ Jod deutlich sichtbar machen. Bei etwas größeren Jodmengen setzt man noch weitere kleine Mengen Chloroform zu.

Die Verfeinerung der Methode gestattet, mit kleineren Mengen Ausgangsmaterial zu arbeiten. Dadurch wird nicht nur Zeit erspart, sondern auch die kritische Periode der Bestimmung, nämlich die Periode der Verbrennung, wesentlich abgekürzt. Jodverluste beim Glühen sind weniger zu befürchten. Da ja unsere Bestimmungen trotz aller Sorgfalt nicht die höchste wünschbare Genauigkeit besitzen und es uns doch in der Regel hauptsächlich auf die Größenordnung ankommt, hat es auch keinen Zweck, danach zu trachten, daß möglichst große Jodmengen zur Bestimmung gelangen.

Auf die Verwendung des früher beschriebenen Mikrokolorimeters habe ich persönlich seither verzichtet, da bei denjenigen Mengen, für welche dieser Apparat in Betracht käme, die Titration eher angebracht ist.

Bei den organischen Stoffen ging ich dazu über, in den meisten Fällen statt der Pottasche als alkalischen Zusatz Kaliumhydroxyd zu verwenden.

---

[1]) 1 γ = 1 Millionstel Gramm.

Bei Fetten ist ja die Verseifung mit alkoholischer Kalilauge unumgänglich notwendig. Nun enthalten aber die meisten pflanzlichen und tierischen Produkte Fett, welches doch auch Jod enthalten kann. Bei der einfachen Verbrennung mit Pottasche könnten da Verluste an Jod entstehen. Die Verseifung mit alkoholischer KOH vermeidet sie. Zugleich wird durch die KOH die ganze Masse so vollständig durchdrungen und größtenteils gelöst, daß nicht zu befürchten ist, daß gewisse Partien nicht damit in Berührung kommen. Von der Verwendung des Kalkes sehe ich, so große Vorzüge er auch durch die Erleichterung der Verbrennung hätte, ab, da er eben das Material weniger gut durchdringt.

Der Alkoholzusatz beschleunigt nicht nur die Auflösung des Fettes, sondern in hohem Grade auch diejenigen der Proteinstoffe. Selbst grob zerschnittenes Fleisch und Drüsenmaterial wird durch alkoholische Kalilauge auf dem Wasserbade in kurzer Zeit bis auf einige Fäserchen aufgelöst, während wässerige Lauge bedeutend weniger intensiv einwirkt.

Man verwendet Kaliumhydroxyd, rein, D A B 5, in Stangen der Firma *Merck.* Zeitweise wurde dieses Präparat als jodfrei befunden. Andere Lieferungen zeigten einen minimalen, aber gelegentlich in Betracht fallenden Jodgehalt. Eine Prüfung ist somit unerläßlich. Man führt sie aus, wie weiter unten bei der Untersuchung von Kochsalz angegeben ist, nachdem man die Lauge mit einer Spur Bisulfit versetzt und mit verdünnter HCl neutralisiert hat. Die Salzsäure wird für sich geprüft nach Neutralisation mit gereinigter Pottasche. Die Befreiung der Pottasche und des Alkohols von den letzteren Spuren Jod geschieht so, daß man 1 kg reiner Pottasche in 810 ccm Wasser löst, diese nahezu gesättigte Lösung sechsmal mit je 500 ccm reinem, 95 proz. Alkohol ausschüttelt und zum Schluß filtriert. Der abgetrennte Alkohol wird destilliert. Will man Alkohol allein reinigen, so destilliert man ihn mit ein wenig Pottasche.

Von den günstigen physikalischen Eigenschaften der Pottasche wird ergiebiger Gebrauch gemacht, als früher. Bekanntlich ist eine konzentrierte Pottaschelösung in Alkohol unlöslich, ja sie verdrängt sogar aus einem Salzbrei den Alkohol, wie folgendes Beispiel zeigt. Schüttelt man einen Salzbrei zur Auflösung des darin vorhandenen Jodids mit Alkohol und gießt die Flüssigkeit ab, so bleibt ein großer Teil des Alkohols mit dem Salz im Kolben zurück. Setzt man nun einige Kubikzentimeter konzentrierter Pottaschelösung hinzu und schwenkt um, so vereinigt sich das Salz mit der Pottaschelösung und der Alkohol läßt sich nahezu ganz abgießen. So kann man einem Salzbrei ohne Filtration durch mehrmaliges Ausschütteln mit Alkohol sein Jodid entziehen, ohne daß wesentliche Mengen Salz in Lösung gehen. Dies ist nicht nur wichtig bei der Analyse der Salze und der Gesteine, sondern das Prinzip läßt sich bei jeder Analyse anwenden, wie wir sehen werden.

Wie aus dem folgenden hervorgeht, habe ich bei meinen Bestimmungen für die letzten Konzentrierungen und für das Verbrennen der letzten Reste organischer Substanz stets Platinschalen verwendet. Ich bin nun angefragt worden, ob sich nicht auch andere Gefäße verwenden ließen, und habe, ohne selbst Versuche gemacht zu haben, Goldschalen als wohlfeileres Material empfohlen. Das Erhitzen muß ja so sorgfältig vorgenommen werden, daß ein Schmelzen des Goldes nicht zu befürchten ist. Zur Not ließe sich wohl auch mit Porzellanschalen arbeiten. Hier dürfte aber bei dem letzten Glühen eine Überhitzung und Verflüchtigung von Alkalijodid eher zu befürchten sein als bei Metallschalen, da die Beobachtung wohl etwas schwieriger sein wird. Darauf müßte also ganz besonders geachtet werden.

Wir wollen nun die Untersuchungsmethoden für die verschiedenen Materialien besprechen, indem wir mit dem einfachsten, dem Wasser, beginnen.

Wasser. Das Eindampfen unter Pottaschezusatz und das Verbrennen erfolgt genau wie früher angegeben. Das Verbrennen kann nach Belieben in einer Eisen- oder in einer Platinschale vorgenommen werden. Statt nun aber den geglühten Rückstand mit 80- bis 90proz. Alkohol zu verreiben, bis er schmierig wird, wobei die Platinschalen durch die harten Krusten oft leiden, befeuchtet man ihn mit einigen Tropfen der konzentrierten Pottaschelösung, gießt dann etwas 95proz. Alkohol darauf und verreibt ganz sanft mit einem Achatpistill oder einem abgeplatteten Glasstab. Der Rückstand wird dabei ohne Anwendung von Kraft teigig oder breiig und läßt sich sehr gut mit dem Alkohol ausziehen. Man verreibt drei- bis viermal mit einigen Kubikzentimetern Alkohol, einer Menge, die sich einigermaßen nach der Menge des Rückstandes richtet, und dampft den abgegossenen Alkohol nun in einer Platinschale auf dem Wasserbade ein, nachdem man ihn mit Wasser verdünnt hat.

War der Trockenrückstand des Wassers gering gewesen und war die Verbrennung der organischen Substanz vollständig erfolgt, so haben wir nun einen kaum sichtbaren, farblosen Rückstand in der Schale, der auch beim darauf folgenden ganz leichten Glühen keine Bräunung zeigt. Ist der Rückstand größer oder ist noch organische Substanz vorhanden, so darf ein Glühen ohne Alkalizusatz nicht erfolgen. Man setzt deshalb 2 bis 3 Tropfen Pottaschelösung und etwas Wasser hinzu, so daß der Boden der Schale benetzt wird, und dampft nochmals ein. Natürlich konnte dieser Pottaschezusatz auch bereits beim Eindampfen der alkoholischen Lösung erfolgen. Man glüht schwach, befeuchtet mit Pottasche, zieht wie vorhin mit Alkohol aus, dampft ein, zieht die Schale sorgfältig durch die Flamme, so daß der Boden eben in ganz schwaches Glühen kommt. Nach dem Erkalten setzt man 0,3 ccm Wasser hinzu, sorgt durch Neigen nach allen Seiten dafür, daß der ganze Boden der Schale benetzt wird, stellt die Schale schräg, so daß die Flüssigkeit zusammenfließt, und gießt sie nach ungefähr einer Minute in ein Jodausschüttelungsröhrchen[1]). Ein kleiner Teil der Lösung bleibt natürlich in der Schale zurück. Wieviel dieser Verlust ausmacht, das bestimmt man ein für allemal durch Wägen der ausgegossenen Flüssigkeit. Bei den von mir verwendeten Platinschalen, sogenannten Normalschalen mit flachem Boden von 8 cm Durchmesser, wie sie in der Weinanalyse gebräuchlich sind, bleibt

[1]) Ein oben schräg abgeschnittenes Röhrchen von 5 mm innerem Durchmesser und 80 mm Höhe. Man achte darauf, daß alle gleichzeitig verwendeten Röhrchen die gleichen Dimensionen haben.

genau $^1/_5$ der Flüssigkeit in der Schale zurück. Das Resultat der kolorimetrischen Bestimmung muß daher mit $^5/_4$ multipliziert werden.

Man gibt nun zu der wässerigen Lösung, wenn man sehr geringe Jodmengen, etwa 0,1 bis 0,3 γ, erwartet, 0,01 ccm Chloroform, bei größeren Mengen 0,02 bis 0,06 ccm, fügt ein Tröpfchen Nitritschwefelsäure[1]) hinzu und schüttelt kräftig 80- bis 100mal um. Dies Umschütteln erfolgt am besten, indem man das Röhrchen mit der einen Hand am oberen Teil festhält und mit der anderen Hand kräftig gegen den unteren Teil schlägt, wobei das Röhrchen stets wieder in seine ursprüngliche Lage zurückfedert. Man zentrifugiert nun und führt die kolorimetrische Bestimmung durch Vergleichung mit Typlösungen aus, die mit Wasser auf dasselbe Volumen gebracht und mit derselben Menge Chloroform und Nitrit versetzt worden sind. Als Typlösungen verwendet man eine mit 13,07 und eine mit 1,307 mg KJ, entsprechend 10 und 1 mg J in je 100 ccm Flüssigkeit. 0,01 ccm der ersteren Lösung entsprechen 1 γ, 0,01 ccm der letzteren Lösung 0,1 γ Jod. Man mißt die Lösungen mit in $^1/_{1000}$ ccm eingeteilten Pipetten von 0,1 ccm Gesamtinhalt ab. Die verdünnten Kaliumjodidlösungen sind einige Monate haltbar.

Zur kolorimetrischen Vergleichung bedient man sich am besten einer in einen Tubus gefaßten Lupe. Ist der Jodgehalt nicht sehr klein, so setzt man nach Bedürfnis noch kleine abgemessene Chloroformmengen hinzu, so daß gut vergleichbare, hellviolettrote Färbungen entstehen.

In der Regel wird nun nach der kolorimetrischen Bestimmung die Titration angeschlossen. Man verfährt dabei mit einigen Abänderungen, wie früher angegeben. Das Chlorwasser darf nicht mehr als einen Tag alt sein. Den Zusatz von 2 Tropfen n HCl habe ich fallen gelassen, da die Lösung durch den Tropfen Nitritschwefelsäure bereits sauer genug ist. Statt Kalkspatsplitterchen kann man mit Vorteil Siedesteinchen aus feingekörntem, mit verdünnter Salpetersäure ausgekochtem und schwach geglühtem Bimsstein verwenden[2]). Die n/100 Thiosulfatlösung habe ich durch n/500 ersetzt, die auch von *Winkler* bei der Jodbestimmung im Kochsalz benutzt wird. Der Titer der Lösung wird bestimmt, indem man die Titration mit einer bestimmten Menge Jodidlösung, entsprechend einigen Gamma Jod, ausführt.

Die kolorimetrische Bestimmung und die Titration wird in allen Fällen analog ausgeführt, wie hier bei Wasser angegeben worden ist.

---

[1]) Ein Körnchen Kalium- oder Natriumnitrit, etwa 0,05 g, in 10 ccm 3/1 n H_2SO_4 gelöst. Das Reagens ist täglich neu herzustellen.

[2]) Privatmitteilung von Prof. *L. W. Winkler*, Budapest.

Gewöhnliches, nicht jodiertes Kochsalz. 100 g Salz werden in einem 400 bis 500 ccm fassenden Kolben aus Jenaer Glas in etwa 300 ccm Wasser unter Zusatz einer kleinen Messerspitze Bisulfit gelöst und die Lösung mit HCl angesäuert. Durch die schweflige Säure wird eventuell vorhandenes Jodat zu Jodid bzw. Jodwasserstoffsäure reduziert. Nach einigen Minuten macht man mit Pottasche gegen Phenolphthalein alkalisch und dampft unter beständigem Umschwenken über freier Flamme bis zum feuchten Kristallbrei ein. Man fügt nun 10 bis 20 ccm Pottaschelösung und etwa 50 ccm Alkohol hinzu, wobei der Salzbrei zusammenfällt. Es dürfen beim Umschütteln keine durch Phenolphthalein rot gefärbte Salzkrusten bleiben. Der Alkohol wird in einen anderen Kolben übergegossen. Man setzt noch einige Kubikzentimeter Pottaschelösung zu, um zu sehen, ob der Salzbrei noch mehr zusammenfällt und noch alkoholische Lösung austreten läßt. Wenn dies nicht der Fall ist, schüttelt man noch dreimal mit 30 bis 40 ccm Alkohol aus, destilliert die vereinigten alkoholischen Lösungen ab, dampft den Rückstand im Kolben nach Zusatz von 0,5 bis 1 ccm Pottaschelösung nochmals zum Kristallbrei ein, schüttelt ihn dreimal mit wenigen Kubikzentimetern Alkohol aus, dampft die Lösung nach Verdünnen mit Wasser in einer Platinschale auf dem Wasserbade unter Zusatz von 6 bis 10 Tropfen Pottaschelösung ein, indem man den Rückstand vorteilhaft zum Schluß mit einem Achatpistill verreibt, um ihn nahezu trocken zu bekommen. Man verreibt nun diesen Rückstand drei- bis viermal mit einigen Kubikzentimetern Alkohol, indem man nach Bedarf noch einige Tropfen Pottaschelösung zusetzt. Dies ist zu empfehlen, wenn der Rückstand noch etwas voluminös und mehr krustenartig als breiig ist. Man dampft den alkoholischen Auszug wieder unter Zusatz von 2 Tropfen Pottaschelösung ein, glüht ihn schwach und verfährt weiter, wie bei Wasser angegeben. Das öftere Ausziehen mit Alkohol vor dem Glühen erfolgt, um das Kochsalz möglichst zu entfernen, da beim Glühen in Gegenwart von Chloriden leicht Jod entweicht, wenn dem nicht durch verhältnismäßig viel Alkali entgegengewirkt wird.

Gesteine und Erde. Bei Gesteinen läßt sich unterscheiden zwischen demjenigen Jod, welches in Carbonaten vorkommt und dem, welches den Silicaten anhaftet. Das erstere geht, obgleich in Wasser unlöslich, bei der Auflösung des Gesteins in Salzsäure als Jodid in Lösung, das letztere muß durch Aufschließen bestimmt werden. Man muß daher bei der Jodbestimmung in Gesteinen vor allem untersuchen, ob das Gestein in HCl löslich ist oder nicht, ob bei der Säurebehandlung nur ein geringer, feiner Schlamm übrigbleibt, wie das bei Jurakalken die Regel ist, oder ob die Einwirkung bald aufhört und gröbere, harte Stücke zurückläßt. Tritt nahezu vollständige Lösung ein, so kann

man das Gestein in grobgepulvertem Zustande verarbeiten; ist die Lösung unvollständig, so daß harte Stücke übrigbleiben, so muß ein feines Pulvern im Stahlmörser der Auflösung vorangehen; ist es überhaupt unlöslich, so genügt das Pulvern nicht, ein Beuteln durch feine Seidengaze ist dann unerläßlich. Das Pulvern soll nicht ein Zerreiben sein, weil dabei zu viel Eisen in Lösung geht, sondern ein Zerklopfen. Die letzten gröberen Bestandteile kann man im Achatmörser verreiben. Das gebeutelte Material wird mit einem Magneten möglichst vom Eisen befreit. So ist das Gestein zum Aufschließen bereit, Sand kann entweder direkt oder nach Zerreiben im Porzellanmörser der Salzsäurebehandlung unterworfen werden, je nach dem Feinheitsgrade; zum Aufschließen des nicht gelösten Anteils ist auch hier ein Beuteln notwendig.

Erde wird vor der Untersuchung durch ein Haarsieb von 0,75 mm Maschenweite gesiebt und nur das feine Material untersucht. Man kann sie natürlich auch je nach speziellen Anforderungen nach den Methoden der Agrikulturchemie in verschiedene Fraktionen zerlegen und diese einzeln untersuchen.

Vor der Jodbestimmung wird die Menge des in Salzsäure Unlöslichen festgestellt. Zur Bestimmung des Unlöslichen wird 1 g Material in einem etwa 40 ccm fassenden Reagenzglase sorgfältig mit HCl (1 : 1) übergossen und in der Kälte stehengelassen, bis die Einwirkung zu Ende ist. Dann verdünnt man stark mit Wasser, zentrifugiert, gießt die Lösung ab und wäscht den Rückstand noch zweimal mit ungefähr 25 ccm Wasser nach. Zum Schluß spült man ihn in eine gewogene Schale, trocknet und wägt.

In der Regel verwendet man so viel Material, daß etwa 2 g HCl-Lösliches und ebensoviel Unlösliches zur Verarbeitung gelangen. Etwas weniger genügt oft auch. Sind z. B. 40 Proz. des Gesteins in HCl löslich, so werden 5 g mit Säure behandelt, und die gesamte Lösung wird verwendet. Vom ausgewaschenen und getrockneten Rückstand werden 2 g aufgeschlossen.

a) Bestimmung im salzsäurelöslichen Anteil. Die Menge mehr oder weniger gepulverten Gesteins, die etwa 2 g Salzsäurelöslichem entspricht, wird in einem geräumigen, etwa 40 ccm fassenden Reagenzglase oder, wenn starkes Schäumen eintritt, in einem Becherglase in kleinen Portionen mit einer Salzsäure (1 : 1) versetzt, welcher zum Liter 2 g Bisulfit zugefügt worden sind. Das Bisulfit soll verhindern, daß durch irgendwelche oxydative Einflüsse, wie etwa durch entstehendes Ferrichlorid, Jod in Freiheit gesetzt werden kann. Die Salzsäure wird in kleinen Portionen, etwa kubikzentimeterweise, hinzugebracht. Droht die Lösung überzuschäumen, so gibt man einige Tropfen Äther hinzu. Man verwende keinen großen Überschuß an Salzsäure; 1 g $CaCO_3$ erfordert etwa 3,5 ccm davon.

Ist die Auflösung der Carbonate erfolgt, so verfährt man genau, wie oben für die Bestimmung des Unlöslichen angegeben worden ist. Man verdünnt die Lösung, zentrifugiert, gießt ab, wäscht zwei- bis dreimal mit genügend Wasser nach. Die Lösung wird in einem 400-ccm-Kolben aus Jenaer Glas mit einem Tropfen Phenolphthaleinlösung versetzt, mit Pottaschelösung deutlich alkalisch gemacht und noch mit weiteren 5 ccm Pottaschelösung versetzt, dann über freier Flamme unter Umschwenken eingekocht, bis ein ziemlich dicker Brei entstanden ist, bis die Lösung anfängt, beim Schräghalten des Kolbens langsamer zu fließen. Man fügt zu dem noch warmen Brei ungefähr 40 ccm Alkohol und schüttelt um. Wenn sich die alkoholische Schicht von der wässerigen leicht trennt, gießt man sie ab und schüttelt noch zweimal in derselben Weise aus. Trennen sich die Schichten nicht, so setzt man 5 bis 10 ccm Pottaschelösung zu und schüttelt wieder. Nun erfolgt die Scheidung in der Regel leicht. Nur wenn etwa zu wenig weit eingedampft worden ist, kann es vorkommen, daß die Schichten sich nicht trennen. Dann setzt man noch mehr Alkohol zu und wird so sicher Erfolg haben. Die Gefahr ist aber größer, daß man zu weit eindampft, als zu wenig weit. Dann hat man nach Zusatz des Alkohols keinen Brei mehr, sondern einen festen Belag an den Glaswandungen, der sich mit dem Alkohol nicht mischen läßt. Daß er nicht genügend extrahierbar ist, zeigt sich darin, daß er, wenigstens teilweise, seine Phenolphthaleinrotfärbung beibehält, statt daß sie an den Alkohol übergeht. In gewissen Fällen läßt sich durch einiges Stehen oder durch Erhitzen am Rückflußkühler doch die gewünschte Mischung erzielen. Man kann auch den Alkohol abgießen und den Rückstand mit ganz wenig Wasser oder mit etwas Pottaschelösung erhitzen oder aber ihn von neuem in viel Wasser lösen und nochmals eindampfen.

Die vereinigten alkoholischen Extrakte werden abdestilliert und der Rückstand weiter verarbeitet, wie weiter oben bei der Jodbestimmung in Salzen angegeben worden ist.

b) Bestimmung im salzsäureunlöslichen Anteil. 2 g gebeuteltes Silicatgestein oder des säureunlöslichen Anteils eines nur teilweise in HCl löslichen Gesteins werden mit der dreifachen Menge KOH unter Zusatz von etwas Wasser über freier Flamme in einem offenen Eisentiegel von ungefähr 50 ccm Inhalt sorgfältig verschmolzen. Bald nachdem das Wasser weggedampft ist, wird der Boden des Tiegels rotglühend, die Masse schmilzt ruhig und die Aufschließung ist beendigt. Bei der Verarbeitung von Quarz resultiert eine dünnflüssige Schmelze, die sich klar in Wasser löst; bei den meisten Gesteinen erhält man eine dicke, breiige Masse. Oft erstarrt sie an der Oberfläche und kann ohne starke Erhitzung nicht wieder flüssig gemacht werden. Das ist aber auch nicht nötig. Die stärkere oder länger dauernde Erhitzung

ist zu vermeiden, da ja die Alkalijodide bei Rotglut flüchtig sind. Bei der Auflösung der Schmelze ist eine gewisse Vorsicht am Platze. Man läßt den Tiegel erkalten, setzt einige Kubikzentimeter Wasser zu und erhitzt sorgfältig, so daß, wo möglich, die ganze Schmelze sich in dem wenigen Wasser zu einem Brei auflöst. Dann gießt man diesen in einen 400 ccm fassenden Kolben und wäscht den Tiegel wiederholt nach. Hat man zum Auflösen etwas zu viel Wasser genommen, so entsteht meist eine klumpige, kleisterartige Gallerte neben fest anhaftenden Krusten, die schwerer aus dem Tiegel zu bringen sind. Gießt man die Lösung ab, bevor die ganze Schmelze in Lösung gegangen ist, so wird der Rest schwieriger gelöst. Die letzten Anteile kann man dann oft nur dadurch herausbringen, daß man noch etwas KOH zusetzt und damit nochmals schmilzt.

In dem Kolben hat man nun eine dicke breiige Masse, eine Mischung verschiedener Silicate. Diese müssen vor der Alkoholextraktion zersetzt werden. Man fügt Phenolphthalein hinzu und säuert mit der oben erwähnten, bisulfithaltigen HCl an, nicht nur, bis die Rotfärbung des Indikators verschwunden ist, sondern bis ein hineingebrachter Tropfen Methylorange rot wird. Die Lösung selbst wird dabei in der Regel gelb. Man macht nun wieder mit Pottasche gegen Phenolphthalein alkalisch, setzt einige Kubikzentimeter überschüssige Pottasche zu, kocht ein und verarbeitet genau wie bei der Bestimmung des salzsäurelöslichen Anteils angegeben worden ist.

Pflanzliche und tierische Materialien. Man verarbeitet je nach dem erwarteten Jodgehalt die Materialmenge, die etwa 10 bis 50 g Trockensubstanz entspricht. In einzelnen, seltenen Fällen kommt man auch mit viel weniger aus. Als alkalischen Zusatz verwendet man Kaliumhydroxyd, und zwar etwa 25 Proz. der Trockensubstanz oder auch etwas mehr.


Abb. 1.

Die Vorbehandlung mit Alkali erfolgt etwas verschieden, je nach der Art der Materialien. Fettfreie oder fettarme pflanzliche Materialien, wie Gras, grüne Gemüse, Cerealien, Knollen- und Wurzelgewächse, Obst usw. werden einige Zeit mit der Kalilauge in passender Verdünnung gekocht, bis sie davon richtig durchdrungen sind. Fettreiche Materialien müssen verseift werden. Handelt es sich um trockene Substanzen, wie etwa Nüsse, Kakao und dergleichen, so bringt man sie nach dem Zerkleinern in einen Erlenmeyerkolben, gibt das in ganz wenig Wasser gelöste Kaliumhydroxyd zu, bedeckt mit Alkohol und erhitzt auf dem Wasserbade mit aufgesetztem Kühler. Gut eignet sich nebenstehend abgebildeter, mit Wasser gefüllter Birnenkühler, der, in zwei Dimen-

sionen ausgeführt, 13,5 × 6 und 8,5 × 3,5 cm, auf jeden Erlenmeyerkolben paßt. Man kann damit rechnen, daß die Verseifung in ungefähr einer halben Stunde beendigt ist.

Bei wässerigen, fettreichen Materialien, wie Milch, setzt man auf 100 ccm 10 g KOH und 30 ccm Alkohol zu und erhitzt, bis das Fett obenauf schwimmt. Zu einer Verseifung des Fettes genügt der Alkohol hier nicht. Man kühlt dann stark ab, gießt die Flüssigkeit vom erstarrten Fette ab und verseift dies besonders mit alkoholischer Kalilauge. Wenn man genügend Zeit hat, wendet man bei Milch bequemer eine kalte Verseifung an. Man setzt das Kaliumhydroxyd ohne Alkohol zu und läßt einige Tage stehen, indem man täglich ein- bis zweimal umschüttelt. Die Rahmschicht verschwindet allmählich, beim Aufkochen tritt Klärung ein.

Bei Muskelfleisch und tierischen Organen ist eine Verseifung mit alkoholischer Kalilauge nicht unbedingt nötig, falls der Fettgehalt nur gering ist. Sie ist aber trotzdem sehr zu empfehlen. Es hat sich gezeigt, daß wässerige Lauge die tierischen Materialien nur langsam angreift; alkoholische Kalilauge hingegen löst sie in kurzer Zeit glatt auf. Man versetzt 100 g grob zerschnittenes Fleisch oder irgendwelche Organe in einem Erlenmeyerkolben mit 10 g festem KOH, erhitzt, bis das Hydroxyd sich im Fleischsaft gelöst hat, setzt nun 30 bis 40 ccm Alkohol hinzu und erhitzt auf dem Wasserbade mit aufgesetztem Birnenkühler weiter, bis die Auflösung erfolgt ist.

Die Verseifung von Fetten geht am besten folgendermaßen. Das in einem Erlenmeyerkolben befindliche geschmolzene Fett wird mit der frisch bereiteten, noch warmen, konzentrierten Kalilauge (2 Teile KOH auf 1 Teil Wasser) geschüttelt. Dann setzt man etwa halb so viel Alkohol zu, wie Fett vorhanden ist und schüttelt anhaltend weiter. In ungefähr einer Minute erhält man in der Regel eine klare Seifenlösung. Geht die Verseifung nicht so glatt vor sich, so vermehrt man die Alkoholmenge und erhitzt auf dem Wasserbade.

Die auf die eine oder andere Art vorbehandelte Substanz wird in eine Eisenschale mit flachem Boden gebracht und der Kolben mit Wasser etwas nachgespült. Meist kommt man mit Schalen von 13 und 15 cm Durchmesser aus; in einzelnen Fällen genügen solche von 10,5 cm, bei voluminösen Materialien benutzt man gern größere von 20 cm Durchmesser. Man erhitzt über einem Pilzbrenner oder auf einem Gasofen mit kleiner Flamme, bis das Material trocken ist, steigert dann allmählich die Temperatur, bis Verkohlung und teilweise Veraschung erfolgt. Eine Entzündung der Substanz sucht man zu vermeiden. Bei größeren Mengen Fett und fettreichen Materialien ist indessen eine trockene Destillation ohne Entzündung in offener Schale nur schwierig durchzuführen. Man bedeckt deshalb bei diesen Materialien

die Schale mit einer zweiten, größeren Schale und läßt die dazwischen austretenden Dämpfe brennen.

Ist die Verkohlung eingetreten und entweichen bei weiterem Erhitzen keine Dämpfe mehr, so nimmt man die Schale vom Feuer, läßt sie abkühlen, benetzt den Inhalt mit Wasser, trocknet und verbrennt nochmals. Wegen des relativ hohen Alkaligehaltes ist auch jetzt die Verbrennung noch unvollständig. Man laugt nun die Kohle dreimal mit wenig Wasser aus und filtriert unter Verwendung einer Nutsche oder einer Filterplatte. Das Filtrat soll womöglich farblos sein; bei Fetten und Ölen ist es meist bräunlich. Die Kohle wird nun in die Schale zurückgebracht und fertig verbrannt. Dies geht meist sehr glatt vor sich. In seltenen Fällen, etwa bei Getreide, ist ein nochmaliges Auslaugen nötig. Der wässerige Auszug wird nun mit der Asche vereinigt, vorsichtig eingedampft und schwach geglüht. Es darf nun nur noch sehr wenig Kohle vorhanden sein. Man löst den Rückstand in wenig Wasser, dampft bis zur breiigen Konsistenz ein, extrahiert mit Alkohol und fährt fort, wie bei Wasser angegeben.

Schilddrüsen. Es mag angebracht sein, über die Untersuchung jodreicher Materialien, wie Schilddrüsen, noch einige Angaben zu machen. Da eine Durchschnittsprobe bei Schilddrüsen nicht leicht zu nehmen ist wegen des mehr oder weniger hohen Fettgehaltes, wegen der Möglichkeit einer verschiedenen Verteilung des Jods in den verschiedenen Partien der Drüse und wegen der kleinen, für die Einzelbestimmung benötigten Materialmenge, wird am besten das ganze Organ oder doch ein größerer Teil desselben mit alkoholischer KOH in der angegebenen Weise verseift; die Seife wird auf 100 oder 200 ccm verdünnt und davon ein aliquoter Teil, der etwa 0,1 bis 0,2 g Drüse entspricht, bei sehr jodarmen Drüsen auch mehr, in einer kleinen Eisenschale verdampft, kurz geglüht, zweimal mit Wasser befeuchtet und wieder geglüht. Ein Auslaugen mit Wasser ist hier nicht immer nötig. Oft verbrennt die kleine Materialmenge ohnedies genügend weitgehend. Man zieht dann mit Alkohol aus und verfährt wie oben.

Harn. Wegen des hohen Chloridgehaltes muß bei Harn die Alkalimenge vermehrt werden; ein Viertel der Trockensubstanz würde hier nicht genügen.

Man verarbeitet 20 bis 100 ccm Harn, bei einigermaßen jodreichen Harnen besser nur 20 ccm. Der Harn wird mit einem Zehntel seines Volumens an konzentrierter Pottaschelösung eingedampft und geglüht. Man befeuchtet mit Wasser, trocknet und glüht wieder, nimmt mit heißem Wasser auf, filtriert, wäscht einmal nach, verbrennt die Kohle und zieht die Asche nochmals aus. Ist das Filtrat gelblich gefärbt, so dampft man es nochmals ein, glüht wieder und arbeitet weiter nach der allgemeinen Vorschrift.

Unsere Methoden wurden an manchen Materialien nachgeprüft, indem man Zusätze von KJ machte und das zugesetzte wiederzufinden suchte. Die Resultate fielen im ganzen befriedigend aus. Die Methode ist aber nicht so einfach, daß jede Analyse ein genaues Resultat liefert; deshalb müssen auch stets Doppelanalysen gemacht werden. Oft ist man auch zu weiteren Bestimmungen genötigt. Um ein ungefähres Bild von der etwa zu erwartenden Genauigkeit zu geben, führe ich hier einige Jodbestimmungen im Kalbsblut an, welche Herr cand. med. *A. Sturm* aus München in unserem Laboratorium ausgeführt hat. Herr *Sturm* war in der Zeit vom 18. bis 21. August hier, um die Jodbestimmungsmethode kennenzulernen.

Es wurden je 10 ccm Blut mit 1 g KOH verbrannt und wie oben angegeben weiter verarbeitet. Die titrimetrische Bestimmung wurde auch überall ausgeführt, da Herr *Sturm* sie kennenlernen wollte, während ich mich bei so kleinen Mengen sonst mit der kolorimetrischen Bestimmung begnüge. Die beiden ersten Bestimmungen führte ich selbst aus, die übrigen wurden von Herrn *Sturm* ziemlich selbständig gemacht. Man fand folgende Werte.

Parallelbestimmungen in Kalbsblut.

Nr.	Kolorimetrisch		Titrimetrisch
	abgelesen	mit 5/4 multipliziert γ J	γ J
1	0,7	0,88	0,98
2	2,3	2,87	2,86
3	0,7	0,88	0,97
4	0,6	0,75	0,85
5	0,4	0,5	0,88
6	0,8	1,0	1,20
Mit Zusatz von 1 γ J in Form von KJ.			
7	1,6	2,0	1,69
8	1,6	2,0	1,56

Die Bestimmung Nr. 2 ist viel zu hoch ausgefallen. Hier ist Jod auf irgend eine Weise dazugekommen. Bei Nr. 5 ist die kolorimetrische Bestimmung zu niedrig, die titrimetrische ist richtig. Hier dürfte der letzte Rückstand etwas zu groß gewesen sein. In Gegenwart von Salzen fällt die kolorimetrische Bestimmung zu niedrig aus. Bei den Bestimmungen mit KJ-Zusatz, Nr. 7 und 8, sind die kolorimetrischen Bestimmungen richtig, die titrimetrischen sind zu niedrig ausgefallen.

Ich habe diese Analysen absichtlich ohne irgendwelche Auslassungen angegeben, um die Methode nicht einfacher, leichter und genauer hinzustellen, als sie in Wirklichkeit ist. Die Hauptsache ist ja, daß man die richtige Größenordnung findet, und das läßt sich tatsächlich erreichen.

Erwähnen möchte ich noch, daß Herr *Sturm* vorher in München unbefriedigende Resultate erhalten hatte, was er hauptsächlich der Verwendung von mit Phthalsäureester denaturiertem Spiritus zuschrieb.

Am genauesten fallen natürlich die Bestimmungen bei relativ hohen Jodgehalten aus. Bei Schilddrüsen erhielt ich gelegentlich in sechs bis acht Parallelbestimmungen titrimetrisch so gut wie identische Werte.

Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur.

III. Mitteilung:

Jodbestimmungen in Lebensmitteln, Düngemitteln, schweizerischen Mineralwässern.

Von

Th. v. Fellenberg.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes in Bern.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

1. Jodgehalt der Lebensmittel.

Die früher[1]) begonnenen Untersuchungen wurden fortgesetzt. Zum Teil wurden gleichartige Lebensmittel aus verschiedenen Gegenden analysiert, so bei Weizen und Roggen. Die betreffenden Muster wurden mir seinerzeit in bereitwilligster Weise von der Abteilung für Monopolwaren des eidgenössischen Ernährungsamtes zur Verfügung gestellt.

Bei den Getränken wurden der Absud und der nach dem Abseihen auf dem Siebe zurückbleibende Rückstand besonders untersucht. Von Tee und Mate wurden je 10 g mit 500 ccm siedendem Wasser übergossen, auf dem Wasserbade 10 Minuten erhitzt und durch ein Sieb gegossen. In den übrigen Fällen wurde die Flüssigkeit 10 Minuten lang im schwachen Sieden erhalten.

Die Tabelle I bringt unsere Untersuchungen über Lebensmittel. Wo nichts weiter bemerkt ist, beziehen sich die Zahlen auf ungetrocknete Proben.

Bei den verschiedenen Weizenproben finden wir ziemliche Schwankungen im Jodgehalt, je nach der Herkunft. Daß bei den Früchten die Malagatrauben und die Zwetschen durch sehr hohen Gehalt hervortreten, rührt natürlich vor allem daher, daß sie in getrocknetem Zustand vorliegen.

Unter den Ölen haben wir zwei Proben Lebertran untersucht. Beide sind jodärmer als ein im Jahre vorher analysiertes Muster mit 7200 γ im Kilogramm. Unter den Ölfrüchten haben die spanischen Nüsse den höchsten Jodgehalt.

Die Untersuchung von gewöhnlichem, fermentiertem Ceylon-Schwarztee ergab nur beim Absud einen Jodgehalt. Im Rückstand ließ sich dieses

---

[1]) Diese Zeitschr. **139**, 441, 1923.

Tabelle I.
Jodgehalte von Lebensmitteln.

	γ J im kg
Getreide, Leguminosen usw.	
Weizen, Hardwinter, Hanley, Vereinigte Staaten	64
„ „ Elkon, Texas, Vereinigte Staaten	48
„ Manitoba, Golden, Gate, Canada	56
„ „ Pennyworth	26
„ La Plata, Südamerika	28
„ Australien	44
„ Rumänien	28
„ Schweiz, Kanton Genf	26
„ „ „ Bern, Mittelland	12
„ „ „ Zürich	40
Roggen, Schweiz, Kant. Bern, Amt Fraubrunnen	60
„ Schweiz, Kanton Waadt	24
„ „ „ Zürich	20
Haferkerne	36
Grünkern	24
Mais, Italien	12
Reis, Italien	32
„ Indien	10
Bruchreis	8
Gerste (Rollgerste)	22
Tapioka	12
Sago	42
Gelbe Erbsen	64
Weiße Bohnen, Musbohnen	24
Linsen	16
Kastanien	15
Früchte.	
Zitronen, Italien, Saft	16
„ „ ganze Frucht	7
„ „ Saft	16
„ „ ganze Frucht	9
„ „ Saft	45
Orangen, „ Fruchtfleisch	6
Mandarinen, Fruchtfleisch	8
„ „	6
Bananen, geschält	29
„ „	28
Malagatrauben, Spanien, getrocknet	120
Zwetschen, getrocknete, Serbien	100
Pilze.	
Ziegenlippe, Boletus subtomentosus, eßbare Anteile	6
„ getrocknet	70
„ Röhrenschicht	7
„ „ getrocknet	43
Öle.	
Lebertran, gereinigt	5100
„ andere Probe	5640
Olivenöl	66

Tabelle I. (Fortsetzung.)

	γ J im kg
Öle.	
Arachisöl	30
Sesamöl	30
Mandelöl	50
Mohnöl	33
Ricinusöl	43
Leinöl, ungekocht	54
Kakaobutter	87
Kokosnußfett	95
Ölfrüchte.	
Haselnüsse	15
Walnüsse	30
Mandeln	20
Spanische Nüsse, Arachis	200
Kakao und Schokolade.	
Kakao, löslich	80
Schokolade	30
"	80
Milchschokolade	140
" mit Kaffee	120
Chocolat à la noisette	60

Tee und ähnlich zubereitete Getränke.

	γ J im Absud von 1 kg	γ J im Rückstand von 1 kg	Summe γ J im kg
Tee, Ceylon	80	0	80
Grüner Tee, Sow-Mee, China	45	28	73
Mate, Brasilien	110	50	160
Kaffee, geröstet	80	0	80
Lindenblüten	70	5	75
Kamillen	70	24	94
Baldrianwurzel	220	12	232
Isländisches Moos	280	30	310

Element nicht mehr nachweisen. Anders verhielt sich der nicht fermentierte, grüne chinesische Tee. Hier fanden sich nahezu 40 Proz. des Jods im Rückstand. Offenbar rührt das daher, daß unlösliche organische Jodverbindungen bei der Fermentierung in lösliche übergehen. Auch bei unfermentiertem Mate, der ja auch aus getrockneten Blättern besteht, ist ein Drittel des Jods im Rückstand geblieben. Bei der Heugärung dürften sich analoge Vorgänge abspielen.

Unter den teeartigen Getränken zeichnen sich Mate und vor allem Baldrian und Isländisches Moos durch hohen Jodgehalt aus.

2. Jodgehalt einiger künstlicher Düngemittel.

Die Düngemittel wurden in einer Berner Drogerie gekauft. Man fand folgende Werte:

Tabelle II. Jodgehalte von künstlichen Düngemitteln.

	γ J im kg
Chilesalpeter, im Februar gekauft	49 000*)
„ Ende Mai gekauft	192 000
Superphosphat	5 700
Thomasschlacke	360
Kainit	440
Ammonsulfat	280
„ andere Probe	190
Kalkstickstoff	40

*) Davon 3200 als Jodid, der Rest als Jodat

Der Chilesalpeter, der im Februar gekauft worden ist, dürfte letztjährige Ware sein, die ihr Jod größtenteils verloren hat. Die Ende Mai gekaufte Probe hingegen ist frisch. Außer bei dem Chilesalpeter haben wir auch bei Superphosphat einen recht hohen Wert. Ganz niedrig ist er eigentlich nur bei Kalkstickstoff.

8. Jodgehalt einiger schweizerischer Mineralwässer.

Der Jodgehalt unserer bekannten schweizerischen Jodwässer ist schon wiederholt bestimmt worden. Es war trotzdem interessant, einige dieser Analysen zu wiederholen, um eventuelle Schwankungen im Jodgehalt festzustellen. Außer dem Rothenbrunnener Wasser sind alle Proben in einer Drogerie bzw. in einem Restaurant in Bern gekauft worden. Von der Passuger Theophilquelle ist zu bemerken, daß sie nicht als Jodquelle bekannt ist. Man fand folgende Werte, verglichen mit den Zahlen der Literatur:

Tabelle III. Jodgehalt einiger schweizerischer Mineralwässer.

Nr.		Nach der Literatur γ J im kg	Eigene Bestimmung γ J im kg
1	Passug, Theophilquelle	—	17,6
2	„ Belvedraquellen	39 (*Treadwell*, 1897)	40,5
3	„ Helenenquelle	280 (*Nussberger*, 1901)	227
4	„ Ulricusquelle	680 (*v. Planta*, 1878)	760
5	„ Fortunatusquelle	1200 (*Nussberger*, 1902)	1005
6	Wildegger Jodwasser	3330 (*Löwig*, 1868)	6310
7	Rothenbrunnen	59 (*Nussberger* u. *His*)	11,6

Unsere Werte sind bald etwas höher, bald etwas niedriger als die der Literatur. Die Passuger Quellen scheinen in ihrem Jodgehalt außerordentlich konstant zu sein. Anders verhalten sich das Wildegger und das Rothenbrunnener Wasser. Das Wildegger Wasser wird gepumpt. Je nach der Schnelligkeit, mit der gepumpt wird, kann fremdes Grundwasser dazu kommen und das Wasser verdünnen (persönliche Mitteilung von Dr. *Eggenberger*). So erklärt sich der bald höhere, bald niedrigere Gehalt, der bei diesem Wasser gefunden wird.

Das von mir untersuchte Rothenbrunnener Wasser wurde am 5. Mai 1924 von Herrn Dr. *Jeger* in Rhäzüns gefaßt und mir am nächsten Tage durch Herrn Dr. *Eggenberger* zugestellt. Das Wasser war nicht ganz klar. Ohne die Verhältnisse näher zu kennen, möchte ich doch die Vermutung aussprechen, das Wasser könnte bei der regnerischen Witterung dieses Frühjahrs durch Oberflächenwasser verunreinigt worden sein. Es mag sein, daß der Jodgehalt bei diesem Wasser auch aus anderen Gründen ein wechselnder ist.

Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur.

IV. Mitteilung:

Über das Entweichen von elementarem Jod aus Meerwasser.

Von

Th. v. Fellenberg.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes in Bern.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

Bis jetzt ist noch nicht experimentell bewiesen worden, daß Meerwasser elementares Jod an die Luft abgibt. *Chatin* spricht sich darüber, soviel mir bekannt geworden ist, nicht aus, während er über das Entweichen von Jod aus Flußwässern und Regenwasser spricht. *Gauthier*[1]) fand in der Luft über dem Meere wohl Jod, gebunden an Mikroorganismen, an Sporen und Algenzellen; anorganisches Jod konnte er hingegen nicht nachweisen und bestreitet überhaupt seine Gegenwart in der Luft. Bei der Wichtigkeit, welche die Frage, ob das Jod des Meerwassers sich durch die Atmosphäre über das Festland verbreitet, besitzt, schien es mir angebracht, sie experimentell zu prüfen.

Ich erhielt Wasser von zwei verschiedenen Meeresgegenden, vom Mittelmeer und vom Kanal. Das eine Wasser, von Capri, verdanke ich der Freundlichkeit von Herrn Dr. med. *F. König*; es wurde Anfang Juni gefaßt und gelangte einige Tage später in meine Hände. Das andere Wasser, von der Isle of Wight, wurde mir von verwandter Seite Ende Juli zugeschickt.

Beide Wässer waren schwach alkalisch. Bis auf ein geringes, flockiges Sediment waren beide klar. Die Sedimente bestanden aus Pflanzenresten und wenigen beweglichen Mikroorganismen, welche als Diatomeen und Infusorien angesehen wurden.

Meerwasser enthält Jod in löslicher und in unlöslicher Form, letzteres gebunden an Mikroorganismen, an das Plankton. Man bestimmte beides getrennt, indem man das Wasser mit Pottaschelösung fällte, den vorwiegend aus Calcium- und Magnesiumcarbonat bestehenden Niederschlag abfiltrierte und nun den Niederschlag und die Lösung getrennt weiter verarbeitete.

Man suchte die Abspaltung von freiem Jod folgendermaßen nachzuweisen. Zwei Wasserproben von je 500 ccm wurden in geräumige Exsikkatoren gebracht. Die Höhe der Wasserschicht betrug etwa 5,6 cm, der

---

[1]) C. r. 128, 643, 1899.

Durchmesser der Wasseroberfläche 9,5 cm. Über dem Wasser befand sich ein Uhrglas mit 2 Tropfen Pottaschelösung, mit etwas Wasser verdünnt, als Absorptionsflüssigkeit für entweichendes Jod. Ein bedeutender Luftraum über der Flüssigkeit enthielt reichlich Sauerstoff für etwaigen Bedarf zu Oxydationszwecken. Der eine Exsikkator wurde im Tageslicht vor einem nach Süden gerichteten Fenster gehalten, der andere wurde im Dunkeln aufbewahrt.

Ferner wurden zwei Wasserproben in 250 ccm fassende enghalsige Meßkolben bis nahezu zum Rande eingefüllt und darüber ein kleines Glasschälchen mit einem Tropfen Pottaschelösung angebracht. Die Kolben wurden mit Glasstöpseln verschlossen. Der Luftraum betrug hier nur 3 bis 4 ccm.

Die Pottaschelösungen wurden nach längerer Zeit untersucht. Unsere Resultate sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Jodgehalt von Meerwasser; Entweichen des Jods beim Stehenlassen.

	Lösliches Jod γ J im Liter	Unlösliches Jod (anPlanktongeb.) γ J im Liter	Summe γ J im Liter	p_H
Wasser von Capri	13,4	4,0	17,4	7,5
Wasser von Isle of Wight . .	13,1	0,6	13,7	7,3

	Jodverlust am Tageslicht		Jodverlust im Dunkeln	
	Exsikkator (viel Luft) γ J im Liter	Meßkolben (wenig Luft) γ J im Liter	Exsikkator (viel Luft) γ J im Liter	Meßkolben (wenig Luft) γ J im Liter
Wasser von Capri:				
Nach 21 Tagen	0,6	0	0,8	0,4
Nach weiteren 26 Tagen . .	1,0	0,25	1,0	0
Wasser von Isle of Wight:				
Nach 16 Tagen	0,25	0	0,25	0
Nach weiteren 14 Tagen . .	0,1	0	0,1	0

Die Menge des gelösten Jods ist in beiden Wässern auffallend ähnlich, das an Plankton gebundene hingegen differiert ziemlich. Jodat ließ sich in keinem der beiden Wässer nachweisen.

Wir finden in beiden Wässern ein deutliches Entweichen von Jod beim Stehenlassen. Es ist aber bedeutend geringer, als wir es bei Regenwässern seinerzeit[1]) gefunden hatten. Dort waren nach 27 bis 33 Tagen in drei verschiedenen Wässern Verluste von 31,43 und 100 Proz. eingetreten; beim Meerwasser von Capri finden wir innerhalb 21 bis 26 Tagen 6 bis 8 Proz. Verlust, bei dem von der Isle of Wight innerhalb 16 Tagen nur 2 Proz. Offenbar wird der Prozeß durch die alkalische Reaktion des Meerwassers so verzögert. Wir haben ja auch in dem stärker alkalischen Wasser den geringeren Verlust.

Ob das Wasser am Tageslicht oder im Dunkeln aufbewahrt wird, spielt keine deutliche Rolle, wohl aber der Luftzutritt. Das Entweichen

[1]) Diese Zeitschr. 139, 422, 1923.

ist viel größer in den Exsikkatoren, wo die Oberfläche groß ist, als in den Meßkolben. Auf dem Meere ist die Oberfläche des Wassers stets bewegt. Wir dürfen annehmen, daß dort die Bedingungen für das Entweichen von Jod günstigere sind, als wir sie bei unserem Laboratoriumsversuch hatten. Wir haben dort ja auch mit ganz anderen Wasserschichten zu rechnen. Es kommt übrigens für unsere Betrachtung nicht viel darauf an, ob wir größere oder kleinere Verluste feststellten; die Tatsache, daß überhaupt Jod aus dem Meere entweicht, ist das Bedeutungsvolle. Sie beweist uns, was wir bis jetzt wohl geneigt waren anzunehmen, aber noch nicht wußten, daß Jod aus dem Meere durch Wind und Regen auf das Festland getragen wird.

Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur.

V. Mitteilung:

Untersuchungen über den Jodgehalt der Luft.

Von

Th. v. Fellenberg.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes in Bern.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Es ist bereits früher[1]) gezeigt worden, daß Jod stets in der Luft vorhanden ist. Bei zwei im Januar ausgeführten Untersuchungen von Laboratoriumsluft wurde das eine Mal in 4,67 cbm kein Jod gefunden, das andere Mal wurde bei Verarbeitung von 12,2 cbm 0,5 γ Jod, entsprechend 0,04 γ pro Kubikmeter, festgestellt. Wenn schon dieser Einzelbefund an und für sich nicht viel sagte, so bewiesen doch andere Ergebnisse, der fast stets gefundene Jodgehalt in Niederschlägen, besonders in Reif, sowie das Entweichen von Jod aus der Erde das Vorkommen von Jod in der Luft.

Ich nahm an, daß das Jod sich in elementarer Form aus der Erde entwickeln und daß es demnach wenigstens teilweise auch in dieser Form in der Luft vorhanden sein müsse. Bei der Berührung mit allen möglichen anorganischen und organischen Stoffen kann es natürlich in andere Formen übergeführt werden und wird sich deshalb nicht leicht als elementares Jod nachweisen lassen. Der Nachweis gelang aber doch im Tau. Wenn freies Jod im Tau vorhanden ist, so muß es doch wohl auch in der Luft sein.

Am 28. September 1923, abends 11 Uhr wurde eine durch gründliches Auskochen mit Pottasche gereinigte Baumwollgaze von 3,6 qm Oberfläche und 218 g Gewicht auf eine Wiese außerhalb der Stadt gelegt. Am nächsten Morgen hatte das Tuch 498 g Tau aufgenommen. Leider war das Auslegen etwas spät am Abend erfolgt. Es war bereits vor 11 Uhr viel Tau gefallen und vermutlich der jodreichste. Das Tuch wurde morgens 6 Uhr 45 Minuten in einem irdenen Topf in das Laboratorium gebracht und ausgeknetet. Es resultierten 295 ccm Flüssigkeit von einer Temperatur von 9°. Man schüttelte sie zweimal mit 15 ccm reinem, über K_2CO_3 destilliertem Chloroform aus zur Aufnahme des freien Jods und bestimmte dieses nach dem

[1]) Diese Zeitschr. **189**, 420, 1923.

Überführen in Pottaschelösung, Glühen, Extrahieren mit Alkohol usw. nach den gebräuchlichen Methoden. In dem mit Chloroform extrahierten Wasser bestimmte man das gebundene Jod nach der bei Wasser angegebenen Methode. Man fand:

1,35 γ freies Jod pro Liter Tau oder 0,19 γ pro Quadratmeter Bodenfläche und

5,75 γ gebundenes Jod pro Liter Tau oder 0,80 γ pro Quadratmeter Bodenfläche.

Eine Wiederholung am 17. Oktober gab auf 3 qm Bodenfläche 241 g Tau, davon:

1,0 γ freies Jod pro Liter Tau oder 0,08 γ pro Quadratmeter Bodenfläche und

3,8 γ gebundenes Jod pro Liter Tau oder 0,30 γ pro Quadratmeter Bodenfläche.

Der größte Teil des Jods wurde also in gebundenem Zustande gefunden, ein gewisser Teil aber frei. Die Überführung in die gebundene (organische) Form kann durch das Tuch selbst oder aber durch Verunreinigungen der Luft erfolgt sein.

Bei der außerordentlich starken Verdünnung, in welcher das Jod in der Atmosphäre verteilt ist, bedarf es trotz unserer empfindlichen Methode einer gewaltigen Luftmenge, um zur Analyse genügende Jodmengen zu erhalten. Zur Lösung bestimmter Aufgaben ist es auch notwendig, die Analyse in kürzester Zeit auszuführen, da die Verhältnisse in der Atmosphäre sich von Stunde zu Stunde ändern können. Analysen, wie sie *Gauthier*[1]) ausführte, der wochen- oder monatelang Luft durch kleine Laboratoriums-Absorptionsapparate leitete, konnten für solche Zwecke nicht genügen. Ich suchte im Gegenteil nach einer Apparatur, mit welcher ein Luftquantum von etwa 5 cbm in einer Stunde zu bewältigen ist. Dazu sollte der Apparat transportabel, leicht montierbar und von Hand zu betreiben sein. Er durfte auch nicht allzuviel kosten. Auch sollte es möglich sein, ihn ohne zu große Schwierigkeiten außerhalb des Laboratoriums neu zu füllen zur Vornahme mehrerer Bestimmungen an abgelegenen Orten.

Bei einem Apparat, der diesen Anforderungen gerecht wurde, durften andererseits gewisse Fehlerquellen in Kauf genommen werden, falls dieselben bei jeder Bestimmung in gleicher Weise zur Geltung kommen. Mit diesen Fehlerquellen ist gemeint, eine gewisse Ungenauigkeit in der Messung des Luftquantums und eine vielleicht nicht ganz quantitative Absorption. Bei den Fehlerquellen unserer allgemeinen Jodbestimmungsmethode, auf welche wiederholt aufmerksam gemacht worden ist, wäre eine allzu große Peinlichkeit in den Anforderungen an die Apparatur in dieser Beziehung sowieso zwecklos.

Der beistehend abgebildete Apparat, den wir schließlich bauten, entsprach vollkommen unseren Bedürfnissen. Das Prinzip der Bestimmungsmethode ist folgendes. Mit Hilfe einer von Hand betriebenen Luftpumpe wird Luft durch ein Absorptionsgefäß durchgedrückt, in welchem das

[1]) C. r. 128, 643, 1899.

Jod in mit Pottasche getränkter Baumwollgaze aufgenommen wird. Zum Schluß werden die Tücher mit Gummihandschuhen ausgepreßt, mit jodfreiem über K_2CO_3 destilliertem Wasser gründlich nachgewaschen, worauf in der Flüssigkeit das Jod bestimmt wird.

Die Luftpumpe besteht aus einem für den Transport auseinandernehmbaren Tischchen, unter welchem ein Blasebalg von etwa 3 Liter Inhalt mit einem Eingangs- und Ausgangsventil angebracht ist. Das Eingangsventil ist durch einen kurzen Gummischlauch mit dem einen oder anderen von zwei entsprechend langen und entsprechend gebogenen Glasröhren von 15 mm lichter Weite verbunden, was gestattet, die Luft entweder in normaler Atmungshöhe (1,55 m) oder dicht über dem Boden zu ent-

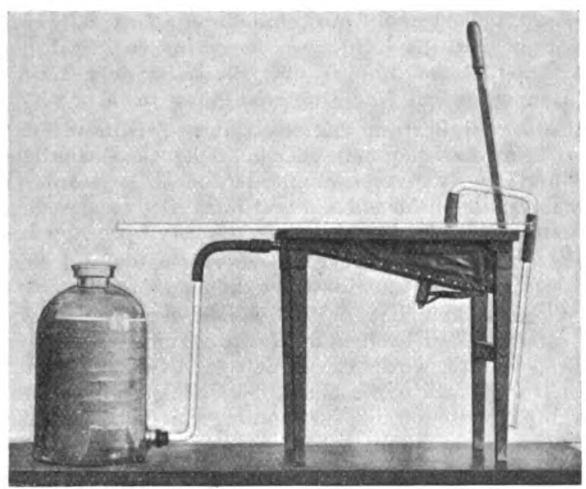


Abb. 1.

nehmen. Die Röhren sind außen etwas erweitert und können mit Gaze überspannt oder mit einem Wattefilter versehen werden zur Filtration der Luft. In der Abbildung ist das Glasrohr zur Luftentnahme am Boden angebracht, das andere Rohr liegt auf dem Tischchen. Das Ausgangsventil der Pumpe mündet durch einen kurzen Gummischlauch in das Absorptionsgefäß.

Um die Pumpe in Betrieb zu bringen, setzt man sich auf das Tischchen und drückt durch Vor- und Rückwärtsstoßen eines Hebels die Luft durch die Apparatur.

Das Absorptionsgefäß ist aus einer gut 12 Liter fassenden Glasflasche mit unten angebrachtem Tubus hergestellt. Durch Absprengen des oberen Teiles der Flasche ist ein Zylinder hergestellt, der durch den abgesprengten Teil wie durch einen Deckel wieder verschlossen und mit Papier verklebt werden kann. Der zylindrische Teil ist 30 cm hoch und 22 cm weit. Er ist im Innern mit zehn übereinander liegenden Doppelstreifen von 10 cm Breite aus Celluloid gefüllt, welche auf einem untersten, 6 cm breiten Ring ruhen. Der unterste Ring ist so hoch, damit das Eintrittsrohr bequem eingeführt werden kann. Zwischen die Doppelreifen ist Baumwollgaze von 0,6 mm Maschenweite gespannt, welche in 0,5proz. Pottaschelösung getränkt ist. Nach dem Füllen des Apparates mit den pottaschefeuchten Trommeln gießt man noch etwa 0,5 Liter Pottaschelösung darüber, so daß

die Flüssigkeit den Boden des Gefäßes bedeckt, ohne höher zu stehen als die Eintrittsstelle der Luft.

Durch diese elf Lagen ist eine absorbierende Fläche von etwa 0,4 qm geschaffen, welche sehr wenig Widerstand bietet und doch eine gute Absorption gewährleistet. Sie erlaubt ein schnelles Pumpen.

Unser Apparat fördert bei jedem Hebelstoß 2,5 Liter Luft. In der Minute lassen sich etwa 28 bis 32, im Durchschnitt etwa 30 Stöße ausführen. Das Pumpen kann ohne zu große Ermüdung 1 bis 2 Stunden lang betrieben werden. Der Absorptionszylinder faßt 11,5 Liter, somit den Inhalt von 4,6 Hebelstößen. Da jeder Stoß etwa 2 Sekunden braucht, so dauert es durchschnittlich ungefähr 9,2 Sekunden, bis die Luft durch die absorbierende Schicht getrieben ist. Während dieser Zeit passiert sie die elf absorbierenden Tücher nicht nur einmal, sondern teilweise mehrmals. Durch jeden Stoß wird die Luft etwas komprimiert. Nach dem Aufhören der Druckwirkung findet infolge der Elastizität der Luft eine leichte rückläufige Bewegung und eine Durchmischung statt.

Man zählt bei der Bestimmung von Zeit zu Zeit die Stöße pro Minute, um sicher zu sein, daß man mit gleichmäßiger Geschwindigkeit arbeitet. Aus der Zeit und den Stößen pro Minute läßt sich die geförderte Luftmenge berechnen, wenn man ein für allemal bestimmt hat, welche Menge auf einen Hebelstoß kommt.

Wir hatten zwei Absorptionsgefäße hergerichtet, um ziemlich gleichzeitig zwei Bestimmungen ausführen zu können.

Einige Schwierigkeit bot es, die verwendete Baumwollgaze jodfrei zu erhalten. Man verwendete einen Stoff, wie er zum Schutze von Spalierobst gegen Vogelfraß benutzt wird. Er enthielt noch Reste der Baumwollsamen und vermutlich war darin und nicht in der Cellulose etwas Jod vorhanden. Für die Zukunft möchte ich die Verwendung von Verbandsgaze empfehlen, welche im Gewebe sehr ähnlich, dabei aber reiner ist.

Die Gaze wurde mit verdünnter Pottaschelösung gekocht, mit Gummihandschuhen gut ausgepreßt und nach gründlichem Auswaschen geprüft. ob sie beim Verkneten mit neuer Pottaschelösung noch Jod an diese abgäbe, Die Operation mußte mehrmals wiederholt werden, bis die Gaze ganz jodfrei war.

Wir suchten durch unsere Untersuchungen folgende Fragen der Lösung entgegenzuführen. Wie groß ist der Jodgehalt der Luft an verschiedenen Tagen in derselben Jahreszeit? Läßt sich ein Zusammenhang mit der Witterung feststellen? Welche Unterschiede sind zu verschiedenen Tageszeiten zu finden, welche bei der Luftentnahme direkt über dem Boden, in Atemhöhe und auf einem hohen Turm?

Die Versuche begannen mit dem 27. September. Man führte vormittags 8 bis 10 Uhr und nachmittags 2 Uhr 45 Minuten bis 3 Uhr 45 Minuten je eine Bestimmung aus. Das Wetter war seit einiger Zeit schön gewesen. Nachts war starker Tau gefallen, der ungefähr gegen 10 Uhr verdunstet war. Die Sonne schien den ganzen Tag. Vormittags war die Luft ruhig, nachmittags war leichter Wind. Die Bestimmungen wurden beide am Fuße des Südwestabhanges des Veielihubels bei Bern auf Grasland ausgeführt.

Bei der Bestimmung am Morgen wurden 8,5 cbm Luft verwendet. Um die Wirksamkeit des Apparates zu prüfen, bestimmte man besonders den

Jodgehalt in der Flüssigkeit am Boden des Absorptionsgefäßes, in den sechs unteren und in den sechs oberen Tüchern. Man fand:

Flüssigkeit	11,8 γ
Sechs untere Tücher	7,7 γ
Sechs obere Tücher	2,1 γ
Summe	21,6 γ

in 8,5 cbm oder 2,54 γ J pro Kubikmeter.

Aus dem Verhältnis des Jodgehaltes der unteren und der oberen Tücher läßt sich berechnen, daß im ganzen 3,4 Proz. des vorhandenen Jods nicht absorbiert worden sind, ein Verlust, den wir ruhig in Kauf nehmen dürfen.

Eine später unter anderen atmosphärischen Bedingungen ausgeführte Bestimmung bei Hintereinanderschaltung von zwei Absorptionsapparaten ergab im ersten Apparat den zufällig sehr niedrigen Wert von 0,3 γ, im hinteren 0.

Die Bestimmung am Nachmittag des 27. September ergab 2,3 γ in 3,75 cbm Luft oder 0,62 γ pro Kubikmeter.

Die Jodgehalte vom Morgen und vom Nachmittag verhalten sich zueinander wie 9,4: 1. Woher rührt dieser große Unterschied?

In der Nacht war starker Tau gefallen. Mit dem Tau wird, wie wir wissen, das Jod der Atmosphäre größtenteils niedergeschlagen. Beim Verdunsten des Taues, was gerade in die Zeit der Bestimmung fiel, gelangte das Jod wieder in die Luft; da Windstille herrschte, blieb es einige Zeit in angereicherter Menge direkt über dem Boden. Weil die Luftentnahme direkt über dem Boden erfolgte, gelangten reichliche Mengen zur Bestimmung. Über den Mittag kam dann Wind, der auch während der Nachmittagsbestimmung anhielt. Eine Anreicherung gegen den Boden zu war jetzt nicht mehr in gleichem Maße vorhanden, daher der viel niedrigere Wert.

Die Anreicherung des Joddampfes direkt über dem Boden wird verständlich, wenn wir bedenken, daß die Dampfdichte des Jods, die höchste aller bei gewöhnlicher Temperatur merkbar flüchtigen Elemente, 8,65mal höher ist, als die der Luft.

Die Jodgehalte, welche wir hier gefunden haben, sind außerordentlich hoch gegenüber dem, was spätere Bestimmungen ergaben. Die äußeren Verhältnisse müssen hier ganz besonders günstige gewesen sein.

Am nächsten Tage, am 28. September, wurden zwei Bestimmungen in ungefährer Atemhöhe, 1,55 m über dem Boden, ausgeführt. Nachts war wieder Tau gefallen, aber weniger als in der vorhergehenden Nacht. Vor 8 Uhr vormittags war etwas Sonnenschein gewesen, zwischen 8 bis 9 Uhr, während der ersten Bestimmung, war der Himmel leicht bedeckt; dann hellte er sich auf und blieb bis am Abend klar. Der ganze Tag war ziemlich windstill. Man fand: morgens 8 bis 9 Uhr 0,72 γ in 4,6 cbm Luft oder 0,16 γ Jod pro Kubikmeter, nachmittags 2 bis 3 Uhr 0,40 γ .in 4,42 cbm oder 0,09 γ Jod pro Kubikmeter.

Die Werte sind bedeutend niedriger als am Tage vorher. Vor allem rührt das daher, daß die Luft in größerer Höhe entnommen worden ist. Die Luft war aber wohl überhaupt jodärmer geworden. In Übereinstimmung mit dem vorhergehenden Tage haben wir weniger Jod am Nachmittag als am Morgen gefunden.

Am 29. September wurde vormittags wieder eine Bestimmung ausgeführt. Diesmal entnahm ich die Luft wieder direkt über dem Boden. Ich fand bei klarem Wetter morgens 8 bis 9 Uhr in 4,5 cbm 1,2 γ oder pro Kubikmeter 0,28 γ Jod.

Von Ende September bis zum 9. Oktober war meistens Regenwetter. Dann hellte der Himmel sich wieder auf. Am 11. wurden wieder zwei Be-

stimmungen, und zwar ungefähr gleichzeitig unternommen. Die Luft wurde für die eine Bestimmung am Boden, für die andere 1,55 m über dem Boden eingefangen.

Man pumpte abwechselnd je eine Viertelstunde bei tief- und bei hochgestelltem Einsaugrohr, bis je 1 Stunde Luft durch die Apparate geleitet worden war. Die Bestimmungen dauerten von 8 Uhr 18 Minuten bis 10 Uhr 25 Minuten. Man fand direkt über dem Boden 8,7 γ in 4,6 cbm Luft oder 1,90 γ Jod pro Kubikmeter; 1,55 m über dem Boden 6,72 γ in 4,6 cbm Luft oder 1,46 γ Jod pro Kubikmeter.

Auch hier wurde also direkt über dem Boden etwas mehr Jod gefunden als in Atmungshöhe.

Man untersuchte diesmal auch die geringe Staubmenge, die sich auf der zum Filtrieren der Luft benutzten Watte befand, ohne jedoch Jod darin nachweisen zu können. Ich möchte dies hervorheben, weil *Gauthier*[1]) in der Meeresluft jodhaltige Mikroorganismen aufgefunden hat.

Die nächsten Versuche sollten zeigen, ob auch eine Abnahme der Jodkonzentration gegen etwas höhere Luftschichten hin zu konstatieren wäre. Sie wurden am 13. Oktober ausgeführt, und zwar einerseits neben der Friedenskirche in Bern, andererseits auf der Terrasse des Turmes selbst. Die erstere Bestimmung erfolgte auf der Straße südlich der Kirche, zwischen der Kirche und einem Bauerngut. Die Luft wurde in Atmungshöhe entnommen. Die Terrasse des Turmes liegt etwa 68 m über der Straße. Das Wetter war an diesem Tage wieder schön sonnig und vormittags, zur Zeit der Bestimmung, ziemlich windstill. Man wechselte mit der Luftentnahme unten und oben wieder ab. Zu Anfang und zum Schluß wurde je eine Viertelstunde unten gepumpt, dazwischen eine halbe Stunde oben. Man fand 8 Uhr bis 9 Uhr 15 Minuten morgens folgende Werte: am Fuße des Turmes der Friedenskirche 2,3 γ in 2,56 cbm Luft oder 0,90 γ pro Kubikmeter; auf der Terrasse des Turmes, 68 m hoch, 1,8 γ in 2,56 cbm Luft oder 0,70 γ pro Kubikmeter.

Es ließ sich also auch hier ein leichter Unterschied wahrnehmen in dem Sinne, daß die unteren Luftschichten jodreicher sind als die oberen.

Es trat nun wieder ein zweitägiges Regenwetter ein. Als es 24 Stunden nicht mehr geregnet hatte, wurde am 15. Oktober eine Bestimmung auf einer 2,4 m hohen Altane ausgeführt. Man fand 8 Uhr 45 Minuten bis 9 Uhr 45 Minuten morgens 1,7 γ in 5 cbm Luft oder 0,34 γ pro Kubikmeter.

Am nächsten Tage fand man bei bedecktem Himmel ebendaselbst in 5 cbm 0,5 γ oder 0,1 γ pro Kubikmeter.

Eine letzte Bestimmung, wieder am Fuße des Veielihubels ausgeführt, ergab 8 Uhr 45 Minuten bis 9 Uhr 45 Minuten 0,15 γ in 5 cbm oder 0,3 γ Jod pro Kubikmeter.

Zusammenfassung.

Im Tau ist elementares Jod nachgewiesen worden.

Unsere Versuche zeigen uns, daß der Jodgehalt der Luft an demselben Orte stark schwanken kann. Nach taureichen Nächten ist er am Morgen beim Verdunsten des Taues besonders hoch, gegen Nachmittag nimmt er ab. Direkt über dem Boden ist die Konzentration an Jod bedeutend größer als in Atmungshöhe. Nach weiterer Erhebung in vertikaler Richtung nimmt sie weiter deutlich ab.

[1]) Siehe vorhergehende Arbeit.

Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur.

VI. Mitteilung:

Über den Zusammenhang zwischen der Häufigkeit des Auftretens von Kropf und dem Jodgehalt der Umwelt.

Von

Th. v. Fellenberg.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes in Bern.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

Bereits vor einiger Zeit[1]) habe ich mich mit Jodbestimmungen in Trinkwässern und Nahrungsmitteln zweier Ortschaften befaßt, die sich darin unterschieden, daß an dem einen Orte, dem im Jura gelegenen La Chaux-de-Fonds, der Kropf sehr selten vorkommt, am anderen Orte, Signau im Emmental, hingegen recht allgemein verbreitet ist.

Die Produkte von La Chaux-de-Fonds erwiesen sich im allgemeinen als viel jodreicher als die von Signau. Es war notwendig, analoge Untersuchungen auch an anderen Orten auszuführen. Diesmal wurden außer Wässern und Nahrungsmitteln noch Luft, Gesteine und Erde in die Untersuchung einbezogen.

Inzwischen ist die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Kropf und Jodgehalt der Nahrung durch *Mc Clendon* weitgehend gefördert worden. Dieser Forscher untersuchte eine Anzahl von Lebensmitteln und zahlreiche Wässer aus nordamerikanischen Gegenden ohne Kropf und aus solchen mit Kropf und fand in den kropffreien Bezirken bedeutend höhere Jodgehalte. Nach seinen Wasseranalysen stellte er eine Jodkarte her, welche mit der Kropfkarte des Landes eine gute Übereinstimmung zeigt.

Im Jahre 1913 ist aus dem Hygieneinstitut der Universität Zürich eine umfangreiche Arbeit von *Th. Dieterle, L. Hirschfeld* und *R. Klinger*[2]) hervorgegangen, welche sich mit den Ursachen des endemischen Kropfes

[1]) Diese Zeitschr. **139**, 441, 1923.

[2]) *Th. Dieterle, L. Hirschfeld* und *R. Klinger*, Epidemiologische Untersuchungen über den endemischen Kropf, Arch. f. Hyg. **81**, 128, 1913.

befaßt. Die genannten Autoren haben in 14 aargauischen Gemeinden nahezu alle Personen auf Kropf untersucht und so ein außerordentlich gründliches und umfangreiches Material geschaffen, welches auch für weitere Arbeiten eine geeignete Unterlage abgibt. Die geologischen Verhältnisse des Bodens und die chemische Zusammensetzung der Trinkwässer wurden von Dr. *A. Hartmann*, Professor an der aargauischen Kantonschule, untersucht. Es wurde jeweils die geologische Formation bestimmt, aus welcher das Trinkwasser stammt, und die Gesteinsart, welche an Ort und Stelle vorkommt.

Ein direkter Zusammenhang zwischen der Ausbreitung der Endemie und bestimmten geologischen Formationen (Trias, Jura, Miocän usw.), aus denen das Trinkwasser stammt, ließ sich nicht nachweisen.

Die Vorarbeit, welche hier geleistet worden ist, bildete die denkbar günstigste Grundlage für unsere vorliegenden Untersuchungen, besonders da Dr. *Hartmann* so freundlich war, mir bei der Probeentnahme der zahlreichen Materialien behilflich zu sein.

Dr. *Hartmann* schlug mir vor, vorläufig die drei Dörfer Effingen, Kaisten und Hunzenschwil auszuwählen, da sie sich durch besonders klare geologische Verhältnisse auszeichnen. Gestein und Erde wurden außerdem im Vorbeigehen von einem Aufschluß bei Hornussen entnommen.

Tabelle I gibt eine Übersicht über die Kropfhäufigkeit und die geologischen Verhältnisse.

Tabelle I.

Kropfhäufigkeit und geologische Verhältnisse bei den untersuchten Ortschaften.

	Einwohner mit Kropf Proz.	Geologische Unterlage	Trinkwasser stammt aus
Effingen . . .	1,0	Unterer weißer Jura (Malm) Effingerschicht.	Effingerschichten
Hornussen . .	12,1	Brauner Jura (Dogger) Hauptrogenstein	—
Kaisten . . .	61,6	Mittlere Trias	Muschelkalk und Oberer Dolomit
Hunzenschwil .	56,2	Untere Süßwasser- und Meeresmolasse, teilw. m. Diluvium überdeckt	Untere Süßwassermolasse u. Meeresmolasse

Die Probeentnahme erfolgte am 6. und 7. Juni 1923. Sie erstreckte sich auf Trinkwasser, Gras, Salat, Kartoffel, Äpfel, Milch, Eier, ferner auf Gesteine und Erde. Wir erhielten an allen drei Orten die Auskunft, daß Chilesalpeter und andere künstliche Düngemittel weder für die Wiesen- noch für die Gemüsedüngung verwendet worden seien.

Es ist natürlich nicht immer leicht, bei pflanzlichen Produkten ein einigermaßen gleichmäßiges und gleichwertiges Material zu erhalten. Je

nach den lokalen Verhältnissen, besonders nach der Bodenfeuchtigkeit, werden sich andere Grassorten ansiedeln. Unsere Grasproben waren denn auch botanisch recht verschieden zusammengesetzt. Die Salate differierten in der Größe beträchtlich. Das mittlere Gewicht der Pflanzen betrug in Effingen 180 g, in Hunzenschwil 130 g und in Kaisten 50 g. Über den Wechsel des Jodgehaltes während des Wachstums wissen wir noch nicht viel Sicheres.

Über die Entnahme der Gesteine und Erdproben ist folgendes zu sagen: Die Proben von Effingen wurden vom Abhang des Rugen, 10 bis 20 Minuten östlich der *Meyer*schen Anstalt erhoben. Der Ammonit Nr. 1 wurde unterwegs vom Felsboden losgeschlagen; weitere Proben stammen von einem etwas höher gelegenen Aufschluß. Es sind dies die Gesteinsproben Nr. 2 der Tabelle I, die etwa 2 m unter dem Boden, der Mergel Nr. 3, der etwa ½ m tief und die Ackererde Nr. 4, die von einem Kartoffelacker unmittelbar über dem Aufschluß entnommen wurde. Weitere Proben sind an einer etwa 60 bis 80 m höher gelegenen, vegetationslosen Stelle erhoben worden. Der Boden besteht dort aus Mergel (Nr. 5) und teilweise aus feinstem Schlamm (Nr. 6).

Die beiden Proben oberer brauner Jura wurden einem etwa 4 m tiefen Aufschluß in der Nähe von Hornussen entnommen. Es handelt sich um Hauptrogenstein, und zwar um Gehängeschutt aus der Tiefe und um die Erde über dem Aufschluß. Vom Gehängeschutt wurden die größeren Stücke, also das unverwitterte Gestein, und das durch ein Haarsieb gegangene Pulver besonders untersucht.

Die Muschelkalkproben von Kaisten stammen von einem Aufschluß bei dem Quellausfluß am Tuttigraben. Der Muschelkalk zieht sich dort in einer Mächtigkeit von 40 m durch den ganzen Heuberg. Das Quellwasser vom Tuttigraben kommt aus dieser Formation. Auch hier wurde festes Gestein aus tieferen Schichten, verwittertes Gestein von 30 bis 50 cm unter der Oberfläche und Erde direkt über dem Aufschluß von einer mageren Wiese entnommen. Düngung an dieser Stelle, ganz am Rande des Aufschlusses, dürfte ausgeschlossen sein.

Der obere Dolomit wurde einem Aufschluß südlich Kaisten an der Straße nach Ittental entnommen. Auch hier lag das verwitterte Gestein 30 bis 50 cm tief. Eine Düngung der direkt am Rande des Aufschlusses gefaßten Erde fällt wohl auch hier außer Betracht.

Die Hunzenschwilerproben stammen vom Lotten, einem Molassehügel in der Nähe des Dorfes. An der Westkante des Nordhanges in halber Höhe wurde an einem Wegeinschnitt, 2 m tief, die Probe Sandstein vom oberen Teil der unteren Süßwassermolasse entnommen, etwas weiter oben, ebenfalls an einem Wegeinschnitt, der Sand. Die Meeresmolasse liegt im obersten Teile des Hügels. Zurzeit wurde dort ein Stollen gegraben, um Wasser zu suchen. Es konnten daher Proben in verschiedener Tiefe entnommen werden, so ein gelber, petrefaktenführender, etwas grobkörnigerer Sandstein, 2 bis 3 m unter Terrain, ein blauer, außerordentlich feinkörniger Sandstein, 20 m tief und dicht daneben ein ebenfalls feiner Schlamm. Über dem Stollen wurde eine Probe Walderde gefaßt. Eine Wasserprobe stammt aus dem ziemlich spärlich aus dem Stollen herausfließenden Wasser.

In diesem Zusammenhange müssen auch einige Jodbestimmungen in Luft erwähnt werden, welche am 31. Oktober und am 1. November 1923 in den Dörfern Effingen und Kaisten ausgeführt worden sind. Die meteorologischen Bedingungen waren zur Zeit der Analysen nicht ungünstige; wegen

der niedrigen Lufttemperatur war aber weniger Jod in der Luft zu erwarten als im Sommer. Eine längere Regenperiode hatte die Luft gereinigt und das momentan darin enthaltene Jod wohl größtenteils herausgewaschen. Der letzte Regen war am 26. Oktober gefallen, und zwar recht ergiebig. Die nächsten Tage waren teilweise etwas bedeckt, teilweise sonnig und warm.

Von größter Wichtigkeit war es, für die Bestimmungen windstille Tage von gleichmäßiger Witterung zu treffen. Dann war zu erwarten, daß hauptsächlich das Jod bestimmt werde, welches an Ort und Stelle aus dem Boden aufsteigt und sich, wie früher[1]) dargelegt, direkt über dem Boden in etwas konzentrierterer Form vorfinden muß. Deshalb wurden die Luftproben auch nur einige Zentimeter hoch über dem Boden entnommen. Die Dörfer Effingen und Kaisten liegen in direkter Luftlinie nur 7 km voneinander entfernt. Die fremden geologischen Formationen rücken noch näher an die Dörfer hinan. Es ist klar, daß da bei stärkerem Wind eine ziemliche Verwischung etwa vorhandener Unterschiede im Jodgehalt der Luft eintreten könnte.

Am 31. Oktober, dem Tage der ersten Bestimmungen, war morgens um 6 Uhr in Bern dichter Nebel; die Temperatur betrug 6° C. Der Nebel hielt bis in den Nachmittag an.

Um 11 Uhr 45 Minuten bis 12 Uhr 45 Minuten wurde die erste Bestimmung in Effingen, am Abhange des Rugen inmitten von Wiesenland vorgenommen. Es war Nebel; leichter Wind wechselte mit Windstille. Der Boden war feucht, das Gras naß; die Temperatur betrug 15 bis 17° C. Leider war auf der Reise ein Defekt am Blasebalg der Apparatur erfolgt, der erst nach Schluß der Bestimmung bemerkt und repariert wurde. Infolgedessen war sehr viel Luft verloren gegangen, d. h. nicht durch den Absorptionsapparat gestrichen. Statt der berechneten 5,3 cbm schätzte man die wirklich zur Wirkung gelangte Luft auf etwa 3 cbm. Man fand 2,3 γ Jod oder pro Kubikmeter 0,77 γ. Ohne Berücksichtigung des Verlustes würde die Rechnung 0,44 γ pro Kubikmeter ergeben haben. Diese mangelhafte Bestimmung hat für sich allein ja wenig Wert; aber sie stützt doch immerhin eine am nächsten Tage vorgenommene Analyse.

Am gleichen Nachmittage wurde eine Bestimmung in Kaisten ausgeführt, und zwar außerhalb des Dorfes in der Richtung nach dem Tuttigraben, auf Muschelkalkboden, und zwar wieder umgeben von Wiesenland. Die Zeit war 15 Uhr 53 Minuten bis 16 Uhr 53 Minuten. Gegen 13 Uhr 30 Minuten war die Sonne teilweise durchgebrochen und hatte während 1 Stunde von Zeit zu Zeit schwach geschienen. Zur Zeit der Bestimmung war wieder Nebel. Es war nahezu windstill, der Boden feucht, das Gras naß. Die Temperatur betrug 14° C. In 4,5 cbm Luft wurden 0,15 γ Jod gefunden, somit pro Kubikmeter = 0,03 γ.

Trotz des Unterschiedes in der Tageszeit waren die äußeren Bedingungen, Temperatur, Belichtung, Feuchtigkeit, Windverhältnisse, so ähnlich, daß die beiden Bestimmungen gut miteinander verglichen werden können.

Am nächsten Tage, dem 1. November, wurde wieder in Effingen eine Bestimmung ausgeführt. Morgens um 6 Uhr waren in Kaisten 9° C. Das Wetter war den ganzen Tag neblig, morgens ziemlich windstill. Die Luftentnahme erfolgte wieder am Rugen, und zwar um 13 Uhr 7 Minuten bis 14 Uhr 7 Minuten bei ganz leichtem Wind. Die Luft war etwas bewegter, als am

[1]) Siehe vorhergehende Arbeit.

Tage vorher; die Feuchtigkeitsverhältnisse waren dieselben, die Lufttemperatur betrug 14° C. Man fand in 4,5 cbm Luft 2,3 γ Jod, somit pro Kubikmeter = 0,51 γ.

Bevor wir die Zusammenstellung der Resultate bringen, muß noch auf eine Größe aufmerksam gemacht werden, die sich in der Tabelle vorfindet, auf die organische Substanz der Erden. Diese läßt sich bekanntlich nicht leicht bestimmen. Da es mir hier nur auf eine approximative und zugleich einfache Bestimmungsweise ankam, ging ich so vor. Die Erde wurde bei möglichst niedriger Temperatur verbrannt. Dabei ging ein Teil des vorhandenen Carbonats in Oxyd über. Der gewogene Glührückstand wurde mit etwas Wasser übergossen und unter Zusatz von Phenolphthalein mit n/10 NaOH in der Kälte titriert. Während einiger Stunden fanden immer wieder Nachrötungen statt; sie wurden stets wieder auf farblos nachtitriert. Aus dem Verbrauch an Lauge wurde das ausgetriebene CO_2 berechnet und zum Glührückstand addiert. Durch Subtraktion von 100 ergab sich die organische Substanz.

Auf weitere, mit Gewichtsänderungen verbundene Reaktionen, die beim Glühen etwa auftreten können, wie Verlust an Konstitutionswasser, Übergang von Eisenoxydul in Oxyd, wurde hier nicht Rücksicht genommen.

Tabelle II bringt die Vergleichung der Jodgehalte bei den drei aargauischen Dörfern.

Tabelle II.

Jodgehalte von Nahrungsmitteln, Wässern, Luft, Gesteinen und Erdproben von Effingen, Kaisten und Hunzenschwil.

Nahrungsmittel (vom 6. und 7. Juni)

	Effingen γ J im kg	Kaisten γ J im kg	Hunzenschwil γ J im kg
Gras, frisch	83	78	76
„ getrocknet	292	296	396
Salat, frisch	34	50	44
„ getrocknet	1078	1085	1078
Kartoffeln	31	35	17
Äpfel	6,4	8,7	20,6
Milch	276	73	85
Eier	215	147	80

Wässer.

	γ J im Liter
Effingen, 1. Quelle. Effingerschichten	3,08
„ 2. „ „	2,0
Kaisten, Quelle Oberkaisten, Tuttigraben, aus Muschelkalk	0,54
„ „ Oberdorf. Oberer Dolomit	0,84
Hunzenschwil, Brunnen im Dorf. Untere Süßwassermolasse	0,25
„ Quelle vom Lotten. Meeresmolasse	0,04

Luft (am 31. Oktober und 1. November direkt über dem Boden gefaßt).

	γ J im cbm
Effingen, am Rugen	0,51 (0,77)
Kaisten, gegen Tuttigraben	0,03

Tabelle II. (Fortsetzung.)
Gesteine und Erden.

	HCl löslich Proz.	HCl unlöslich Proz.	Organische Substanz Proz.	HCl lösliches Jod pro kg Gestein γ	HCl unlösliches Jod pro kg Gestein γ	*Gesamt-Jod pro kg Gestein* γ
Effingen. Effingerschichten, Abhang des Rugen.						
1. Ammonit	77,1	22,9	—	5,800	3,400	9,200
2. Gestein vom Aufschluß . .	91,5	8,5	—	3,700	1,700	5,400
3. Mergel, daselbst, $^1/_2$ m tief .	86,0	14,0	—	5,600	2,230	7,830
4. Erde, Kartoffelacker, daselbst	47,4	52,6	10,4	7,100	4,800	11,900
5. Mergel in höherer Lage . .	79,1	20,9	—	11,600	3,800	15,400
6. Schlamm, daselbst	74,5	25,5	—	10,000	3,420	13,420
Bei Hornussen. Oberer brauner Jura, Hauptrogenstein.						
1. Gestein	91,2	8,8	—	730	100	830
2. Gehängeschutt	74,9	24,1	—	1050	1250	2300
3. Erde	26,8	73,2	12,7	2710	2230	4940
Kaisten. Muschelkalk, Tuttigraben.						
1. Gestein	96,7	3,3	—	390	40	430
2. Verwittertes Gestein	86,2	13,8	—	370	170	540
3. Erde	57,0	43,0	19,5	780	1190	1970
Kaisten. Oberer Dolomit, südlicher Kaisten, Straße nach Ittental.						
1. Gestein	98,8	1,2	—	320	100	420
2. Verwittertes Gestein	91,4	8,6	—	240	80	320
3. Erde	64,1	35,9	14,1	510	310	820
Hunzenschwil. Oberer Teil der unteren Süßwassermolasse, Lotten.						
1. Sandstein, ziemlich grobkörnig .	43,3	56,7	—	90	230	320
2. Gelber Sand	9,7	90,3	—	140	310	450
Hunzenschwil. Unterer Teil der Meeresmolasse, Lotten.						
1. Sandstein, petrefaktenführend, gelb, grobkörnig, 2 bis 3 m tief . .	43,7	56,3	—	150	1450	1600
2. Sandstein, blaugrau, feinkörnig, 20 m tief, im Stollen	40,8	59,2	—	110	590	700
3. Schlamm, 20 m tief, im Stollen .	26,8	73,2	—	110	510	620
4. Walderde	2,2	97,8	4,2	320	290	620

Bei den untersuchten pflanzlichen Nahrungsmitteln haben wir nicht den Eindruck, daß sich das kropfarme Effingen durch höheren Jodgehalt von den beiden Kropfgegenden unterscheide. Wir finden ähnliche, zum Teil auch niedrigere Gehalte bei Effingen. Bei den tierischen Nahrungsmitteln, Milch und Eiern, haben wir hingegen in Effingen weitaus die höchsten Werte. Wie wir später sehen werden, enthält auch der Harn der Bewohner von Effingen bedeutend mehr Jod als der Harn der Kaistener und Hunzenschwiler. Dies zeigt, daß doch im großen und ganzen die am Orte selbst produzierte Nahrung

Unterschiede in diesem Sinne aufweist, und läßt vermuten, daß die von uns untersuchten pflanzlichen Nahrungsmittel aus irgendwelchen zufälligen Ursachen aus der Norm fallen. Es könnten hier die Größe bzw. der Reifegrad, die Wachstumsdichtigkeit, der mehr oder weniger feuchte oder sonnige Standort einen Einfluß auf die Jodaufnahme der Pflanzen ausgeübt haben. Diese Untersuchungen an Pflanzenmaterial sollen eventuell unter erneuter Probeentnahme auf breiterer Basis wiederholt werden.

Bei den Wässern finden wir nun ganz gewaltige Unterschiede im Jodgehalt. Die höchsten Werte zeigen die beiden Proben von Effingen; dann folgen diejenigen von Kaisten, aus Dolomit und aus Muschelkalk. Bedeutend ärmer sind wieder die Hunzenschwiler Wässer, besonders das aus Meeresmolasse austretende. In der Luft finden wir ebenfalls in Effingen außerordentlich viel mehr Jod als in Kaisten.

Gehen wir nun zu den Gesteinen über. Ein erster Blick zeigt uns bereits den gewaltigen Vorrang der Effinger Gesteine. Der Jodgehalt beträgt hier überall viele Milligramme pro Kilogramm. Besonders interessant ist es, die Änderungen zu verfolgen, die bei der Verwitterung der Gesteine, beim Übergang des festen Gesteins in zerfallenes, in Mergel und weiter in Erde auftreten. Von vornherein hätte man eher erwarten sollen, der Jodgehalt nehme bei der Verwitterung ab, denn daß Jod aus dem Gestein ausgewaschen wird, zeigt der Jodgehalt der Quell- und Flußwässer und vor allem des Meeres.

Betrachten wir die Effinger Materialien Nr. 2, 3 und 4, die alle von derselben Stelle stammen. Der feste Fels enthält 5400, der Mergel 7830 und die Erde 11 900 γ im Kilogramm. Statt der erwarteten Abnahme zeigt sich also eine starke Zunahme bei der Verwitterung. Auch bei den Proben 5 und 6 von einem höher gelegenen, gemeinsamen Fundort ist der Jodgehalt des stärker zerfallenen Materials, des Schlammes, höher als der des Mergels.

Der Hauptrogenstein von Hornussen hat seinen Jodgehalt bei der Umwandlung in Erde versechsfacht: von 830 ist er auf 4940 γ gestiegen. Die absolute Zunahme ist hier bedeutend geringer als in Effingen, die relative viel stärker. Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Muschelkalk von Kaisten, wo das feste Gestein 430, das verwitterte 540 und die Erde 1970 γ enthält. Beim oberen Dolomit haben wir nun ausnahmsweise im verwitterten Gestein etwas weniger Jod gefunden als im festen; in der Erde jedoch ist wieder ungefähr doppelt so viel vorhanden.

Bei der Süßwassermolasse fehlt uns die Erdprobe. Der zerfallene Sandstein, der Sand, ist auch hier jodreicher als der Stein, komplizierter liegen die Verhältnisse bei der Meeresmolasse von Hunzenschwil. Beim Eintritt in den erwähnten, frisch ausgehauenen Schacht stieß man bald auf eine petrefaktenreiche Schicht von gelbem, ziemlich grob-

körnigem Sandstein mit dem relativ hohen Jodgehalt von 1600 γ. Später kam ein blaugrauer, viel feinkörnigerer Sandstein mit 700 γ und auch eine Schicht von feinem, schlammigem Material mit 620 γ im Kilogramm. Die Erde mit 620 γ ist hier nicht jodreicher als das Gestein. Sie ist aus einer grobkörnigen, aber dem Augenschein nach nicht aus der petrefaktenführenden Schicht entstanden.

Wir haben in unserer Tabelle auch den salzsäurelöslichen Anteil, also Ca- und Mg-Carbonat und daneben den unlöslichen Anteil, Ton oder Sand, angeführt. Einerseits dienen diese Zahlen zur Charakterisierung der Gesteine. Sie zeigen uns aber auch, welch große Materialmengen bei der Verwitterung herausgelöst worden sind, um die Erden zu bilden.

In der Tabelle III ist die Kropfhäufigkeit mit dem Jodgehalt der Gesteine und der Erden in Beziehung gebracht.

Tabelle III.

Vergleich der Kropfhäufigkeit mit dem Jodgehalt der Gesteine und Erden.

	Kropf Proz.	γ J im kg Gestein	γ J im kg Erde
Effingen	1	5400—9200	**11 900**
Hornussen	12,1	830	**4 940**
Hunzenschwil	56,2	320—700 (—1600)	**620**
Kaisten	61,6	420—430	**820—1970**

Diese Zusammenstellung zeigt in drastischer Weise, wie parallel mit der Abnahme des Jods im Boden der Kropf zunimmt.

Die Frage über den relativen Jodgehalt der Nahrung verschiedener Gegenden kann auch gelöst werden durch Untersuchung des Harns einer genügenden Anzahl Personen. Wenn die Untersuchungen zu derselben Zeit ausgeführt werden, geben die Werte einen Maßstab für die mit der Nahrung aufgenommenen Jodmengen, vorausgesetzt, daß die Versuchspersonen nicht etwa Jod in irgend einer Form als Medikament benutzt haben.

Im großen und ganzen befindet sich unser Organismus bei gleichbleibendem Jodgehalt der Nahrung im ungefähren Jodgleichgewicht, wie dies a. a. O.[1]) nachgewiesen worden ist. Es wird ungefähr gleich viel Jod ausgeschieden, wie eingenommen wird. Der Hauptausscheidungsort sind im allgemeinen die Nieren. Allerdings können auch durch den Schweiß wechselnde, zum Teil ganz beträchtliche Jodmengen abgesondert werden, ja die Ausscheidung durch die Haut kann die durch die Nieren sogar übertreffen. Es ist deshalb nicht möglich, aus Harnuntersuchungen allein genauere Rückschlüsse auf das gesamte aufgenommene Jod zu ziehen. Man kann aber sehr wohl

[1]) Diese Zeitschr. **142**, 246, 1923.

relative Vergleiche anstellen. Dabei wird man eine genügende Anzahl Versuchspersonen und solche von ähnlicher Beschäftigung auswählen müssen. Auch ist es notwendig, die Harnproben möglichst gleichzeitig zu nehmen.

Unsere Untersuchungen beziehen sich auch hier wieder auf die Ortschaften Effingen, Kaisten und Hunzenschwil. Die Auswahl der Versuchspersonen und die Beschaffung der Harnproben wurde in zuvorkommendster Weise besorgt durch Dr. med. *S. Schmid* in Frik für Effingen, Dr. med. *H. Möschler* in Laufenburg für Kaisten und Dr. med. *M. Hämmerli* in Lenzburg für Hunzenschwil. Ich danke den genannten Herren auch an dieser Stelle verbindlichst für ihre Mühewaltung.

Die Harnproben stammen von der Nacht, und zwar diejenigen von Effingen vom 5. November, die von Kaisten vom 27. Oktober, und die von Hunzenschwil vom 3. November 1923. Die Witterung war in diesem Zeitraum ungefähr dieselbe. Der Zeitpunkt der letzten Harnentleerung, die noch nicht aufgefangen wurde, und der Zeitpunkt der Harnentleerung am Morgen wurde aufnotiert und die Harnmenge gemessen. So erhielt man die in der Nacht abgesonderte Harnmenge und konnte daraus die Gesamtausscheidung an Harn und somit auch an Jod auf 24 Stunden berechnen. Die Berechtigung, aus der nächtlichen Jodausscheidung auf die in 24 Stunden erfolgte zu schließen, soll in einer späteren Arbeit nachgewiesen werden.

Die Tabelle IV gibt unsere Resultate wieder.

Die Jodgehalte sind mit einer Ausnahme in Effingen bedeutend höher als an den beiden anderen Orten. Diese Ausnahme betrifft eine Frau (Nr. 2). Auch bei den Hunzenschwiler Versuchspersonen fällt der niedrigste Wert auf eine Frau (Nr. 23). Die übrigen weiblichen Personen verhalten sich nicht anormal. Es ist gut möglich, daß in diesen beiden Fällen eine Mehrjodausscheidung durch das Menstrualblut eine Minderausscheidung durch den Harn bedingt hat.

Der mittlere Wert beträgt für Effingen 64, für Kaisten 19 und für Hunzenschwil 17 γ pro 24 Stunden. Wenn wir die beiden genannten Fälle außer acht lassen, erhöht sich der Wert für Effingen auf 70, für Hunzenschwil auf 18 γ. In Effingen wird dann 3,7mal mehr Jod als in Kaisten, 3,9mal mehr als in Hunzenschwil im Harn ausgeschieden. Die beiden letztgenannten Dörfer unterscheiden sich kaum voneinander.

Die Jodausscheidungen durch den Harn einerseits in Effingen, andererseits in Kaisten und Hunzenschwil sind nicht so sehr verschieden wie die Jodgehalte der Gesteine und Erden an diesen Ortschaften. Hingegen stimmen die Differenzen merkwürdig gut überein mit den relativen Jodgehalten der Milch. Die Milch von Effingen enthielt nach Tabelle II 3,8mal mehr Jod als die von Kaisten, und 3,25mal mehr als die von Hunzenschwil. Diese Übereinstimmung beruht natürlich einigermaßen auf Zufall. Unsere Jodbestimmungen im Harn stützen aber doch im großen und ganzen ausgezeichnet die bei den

Tabelle IV.

Jodausscheidung im Harn, auf 24 Stunden berechnet, in Effingen, Kaisten und Hunzenschwil Ende Oktober und Anfang November 1923.

Nr.	Geschlecht	Alter	Beruf	Schilddrüsenpalpationsbefund	γ J
			Effingen.		
1	♂	10	Schüler	negativ	53
2	♀	34	Landarbeiterin	„	28
3	♂	34	Bahnarbeiter	„	79
4	♂	35	Fabrikarbeiter	„	69
5	♂	36	Bahnarbeiter	„	73
6	♂	42	Landwirt	„	108
7	♂	44	„	„	40
			Kaisten.		
8	♂	7	Schüler	Diffuse Vergrößerung ganz geringen Grades	17
9	♀	13	Schülerin	Geringe diffuse Vergrößerung, weich	14
10	♂	36	Landwirt	Struma nodosa mäßigen Grades	11
11	♂	37	Erdarbeiter	Kleine Struma nodosa	25
12	♀	37	Landwirtschaft, Hausgeschäft	Kolloidstruma, nuß- bis apfelgroß	25
13	♂	37	Landwirt	Geringe diffuse Struma, weich	22
14	♀	40	Hausfrau, Landwirtschaft	normal	24
15	♂	47	Landwirt	Geringe Vergrößerung des Mittellappens	28
16	♂	49	Kraftwerkarbeiter	Diffuse Vergrößerung geringen Grades	29
17	♂	67	Knecht	Rechter Lappen klein-	14
18	♂	72	Wagner	hühnereigroß, sonstige Partien normal	4
			Hunzenschwil.		
19	♂	10	Schüler	Leichte Vergrößerung	10
20	♂	12	„	Ziemlich normaler Befund	8
21	♂	14	„	Leichte, gleichmäßige Schwellung	24
22	♂	19	Landwirt	Große parenchymatöse Struma	7
23	♀	25	Fabrikarbeiterin	Cystenkropf, mäßig groß, des linken Lappens	5
24	♂	26	Bahnarbeiter	Rechtseitiger, mittelgroßer Cystenkropf	19
25	♂	28	Steindrucker	Mäßige Vergrößerung des rechten Lappens	23
26	♂	29	Bankbeamter	Leichte, gleichmäßige Vergrößerung d. Schilddrüse	9
27	♂	30	Fabrikarbeiter	Mäßig starke, diffuse, weiche Vergrößerung der Schilddrüse	22
28	♂	48	Landwirt	normal	27
29	♀	64	Landwirtschaft, Hausfrau	Mittelgroße Struma des Mittellappens, zieml. weich	28
30	♂	72	Landwirt	normal	21

tierischen Nahrungsmitteln, bei Luft, Wässern, Gesteinen und Erden gemachten Beobachtungen. Andererseits bestätigen auch die in Tabelle III angegebenen Schilddrüsenbefunde die Messungen von *Dieterle, Hirschfeld* und *Klinger* aus dem Jahre 1913. In Effingen wurde unter neun Fällen — zwei davon konnten wegen unvollständiger Angaben in der Tabelle nicht berücksichtigt werden — keine vergrößerte Schilddrüse gefunden. In Kaisten ist nur eine Schilddrüse normal von 11, in Hunzenschwil zwei von 12. Ob es ein Zufall ist oder aber irgendwie mit dem Mineralstoffwechsel zusammenhängt, daß in Kaisten mehr knotige, in Hunzenschwil mehr Cystenkröpfe gefunden worden sind, muß dahingestellt bleiben.

Wie erwähnt, ist die gesamte Jodausscheidung und mithin auch die Jodeinnahme unbedingt größer als die hier festgestellte Ausscheidung im Harn. Sie mag, da wir es hier vorwiegend mit Landbevölkerung zu tun haben, deren Hauttätigkeit bedeutend ist, gut das $1\frac{1}{2}$fache, wenn nicht das Doppelte betragen. Aber auch, wenn wir annehmen würden, die Ausscheidung im Harn entspräche dem mit der Nahrung aufgenommenen Jod, so hätten wir in Effingen im Durchschnitt $45\,\gamma$ mehr Jod in der Nahrung als in Kaisten oder $47\,\gamma$ mehr als in Hunzenschwil. Mit 10 g jodiertem Kochsalz nehmen wir ungefähr $50\,\gamma$ KJ oder $38\,\gamma$ Jod täglich auf. Die Mehraufnahme an Jod in Effingen gegenüber Kaisten und Hunzenschwil beträgt also unzweifelhaft mehr, als der Aufnahme durch jodiertes Kochsalz entspricht. In den beiden letztgenannten Dörfern wird man trotz des Genusses jodierten Kochsalzes die natürliche Joddosis von Effingen nicht ganz erreichen.

Da nun in Effingen so wenig wie in irgendwelchen anderen, etwa am Meere gelegenen kropffreien Gegenden mit hohem Jodgehalt Jodtoxikosen an der Tagesordnung sind, müssen auch die Befürchtungen schwinden, das jodierte Kochsalz könne derartige Schädigungen der Gesundheit hervorrufen. Es könnte dies höchstens bei solchen Personen der Fall sein, die auch in kropffreien Gegenden durch die natürliche Erhöhung des Jodgehalts der Nahrung dieselben Störungen zu gewärtigen haben.

Zusammenfassung.

Es werden Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Kropfhäufigkeit und dem Jodgehalt der Umwelt ausgeführt durch Analyse von Materialien aus einigen aargauischen Dörfern, dem nahezu kropffreien Effingen, dem mäßig mit Kropf heimgesuchten Hornussen, den stark verkropften Dörfern Kaisten und Hunzenschwil. In Übereinstimmung mit unseren früher an den Produkten von La Chaux-de-Fonds und Signau gefundenen Resultaten und den neuerdings von *Mc Clendon* erhaltenen Ergebnissen in den Vereinigten Staaten von

Amerika ließ sich weitaus das meiste Jod finden in Effingen, am wenigsten in Kaisten und Hunzenschwil. Diese Unterschiede im Jodgehalt beziehen sich auf Luft, Trinkwasser, Gesteine und Erde, Milch und Eier. Bei den untersuchten pflanzlichen Nahrungsmitteln ließ sich, vermutlich wegen Zufälligkeiten, die mit der Probeentnahme zusammenhingen, dieser Unterschied nicht feststellen. Daß die durchschnittliche Nahrung in Effingen bedeutend jodreicher ist als in Kaisten und Hunzenschwil, ließ sich aber trotzdem mit Sicherheit nachweisen durch Untersuchung von Harnproben aus diesen Ortschaften. Der Harn war in Effingen durchschnittlich nahezu viermal jodreicher als an den beiden anderen Orten. Der Jodmehrgehalt macht im Harn von Effingen etwas mehr aus, als der Jodmenge entspricht, die ein Mensch durch jodiertes Kochsalz im Durchschnitt aufnimmt. Dies wird als starkes Argument für die Unschädlichkeit des jodierten Kochsalzes angesehen.

Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur.

VII. Mitteilung:

Über den Jodgehalt der Gesteine, der geologischen Formationen und der Mineralien und über die Bedingungen der Jodanreicherung in Erden.

Von

Th. v. Fellenberg.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes in Bern.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

Nach den in der vorhergehenden Arbeit Tabelle II mitgeteilten Analysenresultaten könnte man annehmen, der Jodgehalt der Gesteine hänge von ihrer geologischen Formation ab. Die höchsten Jodgehalte fänden sich im Malm, dann folgten die übrigen dort genannten Formationen gemäß dem gefundenen Jodgehalt. Ob diese Beziehungen zwischen Formation und Jodgehalt wirklich bestehen oder ob nicht jede beliebige Formation je nach dem Standort jodreiche und jodarme Gesteine enthalten kann, das mußte an einem größeren Material nachgeprüft werden. Aber nicht nur die Sedimente wurden untersucht, sondern auch eine Reihe von Urgesteinen. Nach *Gauthier*[1]) enthalten die Urgesteine stets Jod. Man ging nun noch weiter und analysierte auch eine Anzahl Mineralien. Auch hier mußte man erwarten, auf Differenzen im Jodgehalt zu stoßen, wobei entweder die Art des Minerals oder aber seine speziellen Lagerungsverhältnisse maßgebend sein konnten.

In den nächsten Tabellen sind eine Anzahl Analysen wiedergegeben, welche zur Beantwortung dieser Fragen unternommen worden sind. Selbstverständlich konnte es sich bei diesem außerordentlich großen Gebiet vorläufig erst um einige Stichproben handeln. Die Tabellen bringen nur unverwitterte Gesteine. Die bereits behandelten Aargauer Gesteine sind hier zum Vergleich wieder aufgenommen. Die Materialien der Tabelle I und II sammelte ich zum größten Teil selbst auf zwei im Sommer 1923 ausgeführten Fußtouren. Zur Bestimmung der Formation bediente ich mich der geologischen Karte der Schweiz (Maßstab 1 : 100000). Die Gesteine wurden durch Vergleichen mit solchen aus dem Berner naturhistorischen Museum identifiziert. Von dem umfangreichen gesammelten Material

---

[1]) C. r. **182**, 935.

wurden nur solche Proben untersucht, welche ich sicher glaubte erkennen zu können. Da ich nicht genügend Fachmann bin, wäre es trotzdem möglich, daß irgend ein kleiner Irrtum unterlaufen wäre. Die Materialien der Tabelle II sind in allen Fällen vom anstehenden Fels abgeschlagen, diejenigen der Tabelle I sind hingegen zum größeren Teil im Geröll aufgelesene Stücke. In dieser Tabelle sind die anstehenden Stücke besonders vermerkt.

Der Fundort der Urgesteine liegt meist im Wallis in der Gegend zwischen Brig — Belalp — Eggishorn — Fieschergletscher — Binnental.

Tabelle I. Gesteine.

	γ J im kg
Massige Gesteine.	
1. Granit, zwischen Märjelensee und Fieschergletscher	440
2. Porphyrgranit, großer Aletschgletscher	380
3. Gneisgranit, zwischen Märjelensee und Fieschergletscher	810
4. Bimsstein	250
Kristalline Schiefer.	
5. Gneis, Eggishorn, Nähe Gipfel, anstehend	380
6. Protogin, zwischen Brig und Belalp, anstehend	440
7. Aplit, zwischen Märjelensee und Fieschergletscher	400
8. Gepreßter Pegmatit, Nähe Gaißpfadsee, anstehend	350
9. Sericit-Quarcitschiefer, zwischen Brig und Belalp, anstehend	220
10. Amphibolit, Märjelensee	250
11. Serpentin, Gaißpfadpaß, anstehend	380
12. Strahlsteinschiefer, Märjelensee	190
13. Chloritfels, Märjelensee	200
14. Hornblendenschiefer, zwischen Brig und Belalp, anstehend	350
15. Muscovitglimmer, Pas de Lona	350
16. Biotitglimmer, Binnental	330
Sedimentgesteine.	
17. Anhydrit, Salzbergwerk Bex, anstehend	300
18. Gips, Fels, Pillonpaß, anstehend	250
19. Gips, schön kristallisiert, durchsichtig, Pillonpaß, anstehend	270
20. Quarcit, zwischen Märjelensee und Fieschergletscher	1100
21. Quarcit, großer Aletschgletscher	3700
22. Quarcit, im Berner Straßenschotter gefunden	8850
23. Calcit, großer Aletschgletscher	230
24. Kalkstein, gebändert, Belpberg, anstehend	440
25. Dolomit, Binnental, anstehend	320

Von den massigen Gesteinen und den kristallinen Schiefern braust keine Probe mit HCl auf. Sie sind also alle praktisch unlöslich in kalter HCl. Von den Sedimentgesteinen sind die beiden Kalksteine und der Dolomit nahezu ganz löslich. Eine Unterscheidung in salzsäurelösliches und -unlösliches Jod, wie die Tabelle II sie bringt, hatte hier also keinen Zweck.

Zwischen den massigen Gesteinen und den kristallinen Schiefern der Tabelle I sind keine typischen Unterschiede, wenn wir von der besonders hohen Zahl des Gneisgranits absehen. Sonst ist der Jodgehalt überall niedrig. Unter den Sedimenten hingegen finden wir einige recht hohe Werte, und zwar ausschließlich bei Quarciten. Unter sich recht verschieden, sind diese derben Quarze in allen Fällen bedeutend jodreicher als die schön

Tabelle II.
Geologische Formationen.

	HCl-Unlösliches Proz.	γ Jod im kg		
		HCl-löslich	HCl-unlöslich	Summe
Diluvium.				
1. Schotter der letzten Eiszeit, Kies u. grober Sand, 80 cm tief, Veielihubel, Bern . . .	22,1	310	660	970
2. Derselbe. Gelber Lehm, 1,20 m tief . . .	23,7	500	520	1040
3. Derselbe. Feiner Sand, 1,70 m tief	26,5	600	780	1380
4. Derselbe. Feiner Sand, 2,40 m tief	27,5	650	440	1090
Tertiär.				
5. Meeresmolasse, Hunzenschwil	59,2	110	590	700
6. Dieselbe, petrefaktenführend	56,3	150	1450	1600
7. Dieselbe, Belpberg, petrefaktenführend, hauptsächlich Tapes vetula	77,0	230	2070	2300
8. Dieselbe, 60 cm über der Tapesbank . . .	80,0	200	1300	1500
9. Dieselbe, 1,20 m unter der Tapesbank . .	73,0	270	1240	1510
10. Untere Süßwassermolasse, Hunzenschwil .	56,7	90	230	320
11. Flysch, Schächental	90,1	60	180	240
12. Flysch, Surenenpaß	62,7	80	150	230
13. Flyschschiefer, zwischen Kinzigpaß und Bürglen	98	—	200	200
14. Nummulitenkalk, zwischen Merligen und Beatenbucht	71,9	350	400	750
Kreide.				
15. Seewerkalk, Eingang Muotatal	1,3	250	—	250
16. Wangschichten, Gipfel Wilerhorn b. Brienz	93	50	120	170
17. Neocom, zwischen Merligen u. Beatenbucht	0,36	310	—	310
18. Neocomschiefer, Muotatal	48,3	380	400	780
Jura.				
19. Malm, Fruttpaßhöhe	6,5	500	—	500
20. Malm, Brünigpaßhöhe	2,4	700	—	700
21. Malm, Kinzigpaßhöhe	0,78	1050	710	1760
22. Malm, Effingerschichten, Effingen	8,5	3700	1700	5400
23. Derselbe, Petrefakt	22,9	5800	3400	9200
24. Dogger, Hauptrogenstein, Hornussen . . .	8,8	730	100	830
25. Lias, Jochpaß	ca. 100	—	320	320
26. Bündnerschiefer, Binn, geg. Saflischpaß zu	ca. 100	—	380	380
Trias.				
27. Rötidolomit, Erstfelder Kontakt	3,5	940	60	1000
28. Oberer Dolomit, Kaisten	1,2	320	100	420
29. Gips, Pillonpaß	—	—	—	250
30. Anhydrit, Salzbergwerk Bex	—	—	—	300
31. Keuper, Schilfsandstein, Ittental, Aargau	ca. 100	—	858	850
33. Muschelkalk, Kaisten	3,3	390	40	430

kristallisierten Varietäten der Tabelle V, Bergkristall, Rauchtopas und Amethyst.

Wenn wir zu den geologischen Formationen der Tabelle II übergehen und die Summe des in HCl löslichen und unlöslichen Jods betrachten, so gewahren wir, daß sie im allgemeinen höher ist als bei den massigen Gesteinen und kristallinen Schiefern der Tabelle I.

Bei vier übereinander liegenden Schichten des Diluviums haben wir ziemlich hohe Zahlen, die unter sich nicht gerade stark differieren. Das in HCl lösliche Jod nimmt in diesen vier Schichten nach der Tiefe zu; beim unlöslichen sehen wir keine regelmäßige Änderung.

Bei der Meeresmolasse finden wir zum Teil recht hohe Werte; das Jod steckt hier größtenteils im Salzsäureunlöslichen. Es wird daher nach unserem Dafürhalten für die Pflanzen wohl nicht sehr in Betracht kommen. Der salzsäurelösliche Anteil des Gesteins ist hier überall niedrig, etwa 10 bis 44 Proz.

Der Flysch zeigt niedrige Werte; zudem ist auch hier das Jod vorwiegend im unlöslichen Anteil. Einen ziemlich hohen Jodgehalt hat der Nummulitenkalk.

Bei der Kreideformation sind nirgends hohe Werte gefunden worden. Die Neocomproben enthalten etwas mehr Jod als die der höheren Schichten.

Beim Jura, und zwar beim Malm, kommen wir zu den höchsten Werten; sie betreffen die uns bereits bekannten[1]) Effingerschichten. Auch der Malm vom Kinzigpaß mit 1760 γ ist recht jodreich. Die übrigen Malmproben und der Dogger sind nicht besonders reich; ihr Gesamtjodgehalt ist sogar niedriger als der der meisten Meeresmolasseproben. Wenn wir aber das in Salzsäure lösliche Jod ins Auge fassen, ändert sich die Sachlage beträchtlich; dann haben wir beim Malm und Dogger überall höhere Werte, nämlich bei der Meeresmolasse 110 bis 270, beim Jura 500 bis 1050 γ, abgesehen von den Effingerschichten.

Lias und Bündnerschiefer, die untersten Lagen des Jura, sind wieder jodarm, und zwar sind beide Proben in HCl so gut wie unlöslich.

Bei der Trias zeichnet sich der Rötidolomit durch hohen Jodgehalt aus; zudem ist das Jod vorwiegend im löslichen Anteil. Ein weiterer ziemlich hoher Wert in dieser Formation betrifft den Keuper von Ittental. Das Jod dürfte hier wieder von geringer Bedeutung für die Pflanzen sein, weil dieses Gestein in HCl unlöslich ist.

Zusammenfassend können wir sagen, daß wir eigentlich hohe Werte nur bei den Effingerschichten gefunden haben. Über dem Durchschnitt liegende Werte lieferten auch die Meeresmolasse, das Diluvium, die übrigen Malmproben und der Dogger. Bei der Meeresmolasse ist aber das Jod zum kleinsten Teil in Salzsäure löslich.

Wenn wir schon dem salzsäurelöslichen Anteil des Jods mehr Bedeutung beilegen als dem unlöslichen, so spielen doch noch weitere Dinge eine Rolle für die Versorgung der Pflanzen mit diesem Element, vor allem die Fähigkeit der Erde, Jod zu speichern, womit wir uns noch besonders beschäftigen werden.

Die Zahlen unserer Tabelle sprechen nicht dafür, daß einzelne geologische Formationen besonders jodhaltig, andere besonders jodarm wären. Innerhalb der einzelnen Formationen sind die Zahlen recht verschieden. Auch wechselt der Gehalt an Salzsäureunlöslichem, an Ton und Sand, von Gestein zu Gestein in derselben Formation. In der Kreideformation haben wir da Schwankungen von 0,36 bis 93 Proz.,

---

[1]) Siehe vorhergehende Arbeit.

im Jura von 0,78 bis gegen 100 Proz., bei der Trias von 1,2 ebenfalls bis 100 Proz. Da die Gesteine selbst innerhalb der Formation so verschieden zusammengesetzt sind, wäre es doch zu überraschend, wenn ihr Jodgehalt eine Konstante sein sollte. Wenn wir trotzdem neben manchen Unstimmigkeiten einige Analogien bei Gesteinen derselben Formation finden, so liegt das daran, daß trotz aller individuellen Verschiedenheit doch gewisse Charakterzüge den einzelnen Formationen gemein sind. Da kann denn auch bei ähnlichen Gesteinen der Jodgehalt gelegentlich ähnlich sein.

Unsere Untersuchungen sind ja erst an einem beschränkten Material ausgeführt worden. Große Gebiete, gerade auch von den kropfärmsten und kropfreichsten der Schweiz, sind noch gar nicht berücksichtigt worden. Trotzdem glaube ich schon jetzt mit Bestimmtheit sagen zu können, daß der Jodgehalt der Gesteine unabhängig von der geologischen Formation ist.

Ich ging nun daran, die Zahlen dieser Tabelle mit den Ergebnissen der *Stiner*schen Kropfkarte[1]) zu vergleichen, in welcher die Kropfhäufigkeit nach Bezirken eingetragen ist, und zwar nach Untersuchungen an den Stellungspflichtigen der Jahre 1921 und 1922. Irgend eine Regelmäßigkeit ist dabei nicht herausgekommen. Das braucht auch weiter nicht zu verwundern, denn einzelne, an bestimmten Stellen in den Bergen gesammelte Gesteinsproben entsprechen natürlich nicht dem mittleren Jodgehalt des geographischen Bezirks, aus dem sie stammen. Auch würde uns die Kenntnis des mittleren Jodgehalts der Bezirke noch nicht viel nützen, da ja nur der kultivierbare Boden für die Ernährung in Betracht kommt. Auch wären die Bezirke für eine solche Betrachtung zu groß. Im gleichen Bezirk wird es oft kropfreichere und kropfärmere Gegenden geben, die sich auf der Karte dann ausgleichen. Das zeigt sich darin, daß oft Bezirke mit sehr viel Kropf direkt an solche mit sehr wenig Kropf angrenzen. Hier ist natürlich nicht die geographische Grenze für den Jodgehalt maßgebend.

Wir haben in einzelnen Fällen benachbarte petrefaktenführende und petrefaktenfreie Schichten derselben Formation untersucht. Die Resultate, die übrigens in der Tabelle II enthalten sind, seien hier nochmals zusammengestellt.

Tabelle III.
Vergleichung petrefaktenfreier und petrefaktenführender Schichten.

	Petrefaktenfrei γ Jod im kg	Petrefaktenführend γ Jod im kg
Effingerschichten	5400	9200
Meeresmolasse, Hunzenschwil	700	1600
Meeresmolasse, Belpberg	1500, 1510	2300

Die erste Zahl bei der Meeresmolasse vom Belpberg bezieht sich auf eine Schicht, die 60 cm höher, die zweite auf eine, die 1,20 m tiefer liegt als die petrefaktenführende Schicht.

[1]) Schweiz. med. Wochenschr. 54, Nr. 17, 1924.

In allen Fällen finden wir in den petrefaktenführenden Schichten mehr Jod, als in den benachbarten petrefaktenfreien Schichten. Auf den Fall der Effingergesteine möchte ich kein Gewicht legen. Das untersuchte Petrefakt stammt von einer Stelle, die einige 100 m von dem Fundort der anderen Gesteinsprobe entfernt liegt. Bei den Hunzenschwiler Molasseproben liegen die Fundorte nur etwa 18 m voneinander. Die Gesteine unterscheiden sich aber hier durch die Farbe und die Größe der Sandkörner ziemlich stark. Die Proben vom Belpberg hingegen liegen so nahe übereinander, daß man wirklich den Eindruck erhält, der Mehrgehalt an Jod rühre direkt von den Petrefakten her.

Man mußte sich nun fragen: Enthalten nur die Weichteile der Meerestiere Jod oder ist es auch in den kalkigen Schalen vorhanden? Wenn auch die Schalen Jod enthalten, bleibt es dann auch beim Versteinerungsvorgang darin und läßt sich heute noch nachweisen?

Man untersuchte die kalkigen Gerüstsubstanzen jetzt lebender Meerestiere und daneben diejenigen von drei fossilen Arten, einem Belemniten und zwei Muscheln. Bei den rezenten Arten wurde das anorganische und das organische Jod getrennt bestimmt. Man löste die Substanz in kalter Salzsäure, filtrierte von der geringen Menge ungelösten Conchins ab, bestimmte im Filtrat das anorganische Jod nach dem Ausschütteln mit Chloroform und Nitritschwefelsäure und hernach das organische Jod sowohl im Conchin als auch in der ausgeschüttelten wässerigen Lösung.

Von den Petrefakten unserer schweizerischen Meeresmolasse findet man außer bei Ostrea und Pekten selten mehr die kalkigen Schalenreste. An gewissen Fundorten, so im Marbachgraben am Belpberg, sind hingegen auch von anderen Muscheln noch Reste davon vorhanden, die sich abklopfen und abschaben lassen. So erhielt man mit einiger Mühe genügend Schalenmaterial von Tapes vetula.

Unsere Tabelle IV bringt die erhaltenen Resultate.

Tabelle IV.

Vergleichung des Jodgehaltes der Gerüstsubstanzen rezenter und fossiler Weichtiere.

	γ Jod im kg		
	anorganisch	organisch	Summe
A. Rezente Arten.			
1. Edelkoralle, Corallium rubr., Mittelmeer	2200	2200	4400
2. Riffkoralle, Acropora varia, Mittelmeer	460	2010	2470
3. Sepiarückenschild, Sepia offic., Mittelm.	200	250	450
4. Auster, Mittelmeer	100	1240	1340
5. Kleine, dünnschalige Muschel, Mittelmeer	1120	2960	4080
B. Fossile Arten.			
6. Belemites acutus, Insel Rügen	—	—	370
7. Auster, Ostrea tegulata, Belpberg	—	—	200
8. Tapes vetula, Belpberg, Marbachgraben	—	—	610

Wir finden also in allen Muschelschalen Jod, und zwar in einzelnen Fällen vorwiegend an das Conchin gebunden, in anderen Fällen etwa zu

gleichen Teilen in anorganischer und organischer Bindung. Das ist interessant, weil es uns zeigt, daß das Jod sich in den Meeresablagerungen in Form der Schalenreste anhäufen kann, daß dazu nicht unbedingt die Weichteile der Tiere notwendig sind.

Die fossilen Gerüstsubstanzen sind bedeutend jodärmer als die rezenten. Die fossile Austernschale enthält sechs- bis siebenmal weniger Jod als diejenige vom Mittelmeer, die Tapes vetula ebenfalls sechs- bis siebenmal weniger als die untersuchte dünnschalige Muschel.

Wenn wir annehmen, was wir natürlich nicht genau wissen, daß das Molassemeer einen ähnlichen Jodgehalt gehabt habe, wie unsere Meere, so kommen wir zum Schluß, daß in den untersuchten Fällen der Jodgehalt der Muschelschalen während des Versteinerungsvorganges stark abgenommen hat. Ich habe den Eindruck, daß zwischen den Petrefakten und ihrer nächsten Umgebung mit der Zeit ein Ausgleich im Jodgehalt stattfindet, und zwar scheint das auswandernde Jod zum Teil in die salzsäureunlösliche Form überzugehen. Ob es sich darin in anorganischer oder organischer Form vorfindet, ist noch nicht untersucht worden. Jedenfalls ist es auffällig, daß der Mehrgehalt an Jod in den petrefaktenführenden Schichten hauptsächlich das Salzsäureunlösliche betrifft. Unsere Versuche sind natürlich noch zu spärlich, um mit Sicherheit entscheiden zu können, ob nun stets die petrefaktenführenden Schichten jodreicher sind als ihre Umgebung.

Die Tabelle V bringt die Analysen einer Anzahl Mineralien. Sie wurden größtenteils von dem Mineraliengeschäft *Infanger* in Flüelen bezogen. Eine Anzahl Stücke habe ich auch selbst gefunden. Der Skapolith vom Campolungopaß wurde mir in freundlicher Weise von Herrn Dr. *F. Mühlethaler* übergeben.

Die halogenhaltigen Mineralien sind besonders aufgeführt, weil erwartet wurde, sie könnten eine gewisse Sonderstellung einnehmen.

Eines dieser halogenhaltigen Mineralien, das Grünbleierz von *Prybram*, enthält die große Menge von 10000 γ Jod im Kilogramm. Im übrigen hat noch der Skapolith vom Campolungopaß einen etwas erhöhten Jodgehalt (2200 γ), ebenso die beiden Vesuviane (1130, 1250 γ). Quarz, Calcit, Gips sind alle jodarm. Unter den Erzen finden wir nebst jodarmen Proben einige mit mittlerem Jodgehalt, wie etwa Brauneisenstein (870 γ), Zinkblende (950 γ), Uranpecherz (940 γ), einige andere mit sehr hohem Gehalt. Da ist der Wulfenit von Kärnten mit 8550 γ und schließlich zwei Rotkupfererze von ganz verschiedener Provenienz, England und Australien, mit dem enormen Gehalt von 38000 bzw. 38800 γ im Kilogramm.

Betrachten wir die gleichartigen Mineralien von verschiedener Herkunft. Ähnliche Jodgehalte haben die Apatite von Sulzbach und von Floitenturm im Zillertal (300 und 440 γ), die Vesuviane von Sibirien und von Piemont (1130 und 1250 γ), die Brauneisenerze vom Baltschiedertal und von Effingen (870 und 750 γ), die Rotkupfererze von Cornwall und von Australien (38000 und 38800 γ). Einen ziemlich ähnlichen Gehalt zeigen auch die Topase vom Schneckenstein und von Brasilien (540 und 380 γ). Sehr verschiedene Werte fand man bei den beiden Turmalinen von New York und dem von Brasilien (650, 400, 130 γ). Es ist aber bekannt, daß man unter Turmalin recht verschieden zusammengesetzte Mineralien versteht[1]). Die

[1]) Siehe *F. Klockmann*, Lehrbuch der Mineralogie.

Tabelle V. Jodgehalte von Mineralien.

		γ J im kg
	Halogenhaltige Mineralien.	
1.	Boracit, Toscana, $Mg_7B_{16}O_{30}Cl_{12}$	440
2.	Apatit, durchsichtig, Sulzbach, $Cl(F)Ca_5(PO_4)_3$	300
3.	Apatit, Floitenturm, Zillertal, undurchsichtig	440
4.	Pyromorphit, Grünbleierz, Prybram, Böhmen, $ClPb_5(PO_4)_3$	10000
5.	Pyromorphit, Braunbleierz, Braubach	400
6.	Topas, Schneckenstein bei Auerbach, Sa., $Al_2(F, OH)_2SiO_4$	540
7.	Topas, Villa Rica, Brasilien, klar	380
8.	Turmalin, Pierpoint, New York, schwarz, undurchsichtig	650
9.	Turmalin, Minas Geraes, Brasilien, rosa, durchsichtig	400
10.	Turmalin, Pierpoint, Nordamerika, gelbbraun, halbdurchs.	130
11.	Vesuvian, Wilnifluß, Sibirien, undurchs., $(OH, F)Ca_6Al_3Si_5O_{21}$	1130
12.	Vesuvian, Ala, Piemont, grün, halbdurchsichtig	1250
13.	Skapolith, Passo Campolungo, Tessin, $Na_4Al_3Si_9O_{24}Cl$, $Ca_4Al_6Si_6O_{25}$	2200
	Weitere Mineralien.	
14.	Bergkristall, Binnental, SiO_2	200
15.	Rauchtopas, Tellialp, Kt. Uri	500
16.	Amethyst, Brasilien	420
17.	Feuersteinknollen, Insel Rügen	630
18.	Calcit, durchsichtig, $CaCO_3$	50
19.	Gips, Pillonpaß, durchsichtig, $CaSO_4$, $2H_2O$	270
	Erze.	
20.	Hämatit, Blutstein, Insel Elba, Fe_2O_3	440
21.	Brauneisenstein, Baltschiedertal, Fe_2O_3, $3H_2O$	870
22.	Brauneisenstein, Rugen, Effingen, aus Pyrit entstanden	750
23.	Pyrit, Rugen, Effingen, kugelig	200
24.	Kupfer, gediegen, Corocoro, Bolivien, Cu	670
25.	Kupfer, gediegen, Cornwall, aus Cuprit	4000
26.	Rotkupfererz, Cuprit, Cornwall, Phönixmine, Cu_2O	38000
27.	Rotkupfererz, Cuprit, Australien, Burra-Burramine	38800
28.	Buntkupfererz, Kupferberg, Schlesien, Cu_3FeS_3	310
29.	Lichtes Rotgültigerz, Proustit, Joachimstal, Ag_3AsS_3	550
30.	Zinkblende, Freiberg, Sachsen, ZnS	950
31.	Zinnstein, Kassiterit, Graupen bei Schlaggenwald, SnO_2	70
32.	Zinnober, Sclana, Ungarn, HgS	500
33.	Weißbleierz, Cerussit, Leadshill, $PbCO_3$	0
34.	Bleiglanz, Freiberg, Sachsen, PbS	120
35.	Gelbbleierz, Wulfenit, Kärnten, $PbMoO_4$	8550
36.	Wolframit, Zinnwald, Erzgebirge, $(FeMn)Wo_4$	550
37.	Uranpecherz, Joachimstal, $(UPb_2)_2U_2O_{12}$	940

vorliegenden Proben sind auch äußerlich sehr ungleich in der Farbe und Durchsichtigkeit. Nun liegt noch ein ähnlicher Fall vor wie bei den Turmalinen. Von den beiden Pyromorphiten ist der eine, ein Grünbleierz, außerordentlich jodreich; es enthält 10000 γ Jod im Kilogramm; der andere, ein Braunbleierz, enthält nur 400 γ.

Auch die sehr ähnlichen Mineralien Bergkristall, Rauchtopas, Feuerstein unterscheiden sich ziemlich stark.

Überblicken wir diese Resultate, so sehen wir, daß wir im allgemeinen bei denselben Mineralien von verschiedener Herkunft ähnliche

Jodmengen gefunden haben, auch wenn die Fundorte sehr weit voneinander liegen. Bei Mineralien, welche in die gleiche Gruppe gehören wie die Pyromorphite oder Quarze, aber doch nicht identisch sind, können jedoch die Werte sehr verschieden sein. Unsere Analysen scheinen auf eine gewisse Regelmäßigkeit zu deuten. Diese müßte aber noch durch weiteres Material bestätigt werden.

Nach *Chatin* ist Kupfer stets jodhaltig, ja sogar relativ jodreich. Wir erwarteten deshalb auch in den natürlichen Vorkommen von Kupfer und in Kupfererzen hohe Jodgehalte. Sie fanden sich jedoch nicht in allen Fällen. Das gediegene Kupfer von Bolivien ist ziemlich jodarm (670 γ), ebenso das schlesische Buntkupfererz (310 γ), wogegen die beiden Rotkupfererze sich durch die höchsten Jodgehalte auszeichnen. Dasjenige von Cornwall enthielt im Innern gediegenes Kupfer, welches sich beim Zerschlagen des Minerals in Form von Plättchen gewinnen ließ. Man fand darin 9,5mal weniger Jod als in dem Rotkupfererz selbst, aber immer noch viermal mehr als in dem Kupfer von Bolivien. Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß dem ausgeklopften Kupfer noch kleine Mengen Erz anhaften konnten, da diese mechanische Trennung doch etwas roh war.

Der große Unterschied im Jodgehalt des Rotkupfererzes und des damit zusammen vorkommenden gediegenen Kupfers führt uns zu der Frage: Wie kommt das Jod in die Mineralien? In welcher Form ist es darin? In welchem Sinne ändert sich der Jodgehalt bei der Metamorphose der Mineralien?

Nach *Klockmann* werden Kupfermineralien leicht zu metallischem Kupfer reduziert. Man wird deshalb wohl annehmen müssen, daß das im Innern des Cuprits vorhandene Kupfer aus dem Cuprit entstanden ist und nicht umgekehrt der Cuprit aus dem gediegenen Kupfer. Wenn dies der Fall ist, hat der Cuprit bei der Reduktion sehr viel Jod verloren. Wir kennen aber auch einen Fall, wo ein Mineral bei der Metamorphose seinen Jodgehalt vermehrt hat. In dem Schlamm von Effingen[1]) fanden sich kleine, kugelige oder tränenförmige Gebilde aus Pyrit von ungefähr 5 mm Durchmesser mit mehr oder weniger vorstehenden Kristallkanten. Außerdem fand man auch ähnliche, meist etwas weniger regelmäßige Stücke aus Brauneisenerz, die durch Metamorphose aus dem Pyrit entstanden waren. Der Pyrit enthielt 200, das Brauneisenerz 750 γ Jod im Kilogramm. Das ist immer noch 18mal weniger als der Schlamm mit 13420 γ. Bei der Metamorphose hat das Eisenerz somit Jod aus der Umgebung aufgenommen. Wahrscheinlich erhalten die Mineralien ihr Jod in vielen Fällen auf die Weise, daß sie aus jodhaltigem, durchsickerndem Wasser Jod aufnehmen.

Über die Bindung des Jods in den Mineralien und in den Gesteinen überhaupt kann man sich in einzelnen Fällen gut eine Vorstellung machen. In den Kupfermineralien kann es als schwer lösliches Kupferjodür vorhanden sein. Nach *Autenrieth*[2]) ist das Jod im jodhaltigen Malachit als CuO, CuJ_2, H_2O gebunden. Auch bei einigen anderen Schwermetallen, wie Ag und Hg, liegt die Art der Bindung klar. Fehlen aber diese Schwermetalle, so ist man versucht, an eine komplexe Bindung

[1]) Siehe vorhergehende Arbeit, Tabelle II, Nr. 6.
[2]) Siehe *Gmelin*, Krauts Handb. d. anorg. Chem., 7. Aufl., 5, 949.

des Jods zu denken. Wie ja auch das Chlor hauptsächlich leicht lösliche Verbindungen bildet und doch in den Apatiten und gewissen anderen Mineralien in schwer löslicher Form auftritt, so kann man sich das auch beim Jod vorstellen. Ich wurde in dieser Auffassung bestärkt durch die Untersuchung eines Superphosphats, welches die ansehnliche Menge von 5760 γ Jod im Kilogramm enthielt. Superphosphate werden ja in der Regel aus Apatiten hergestellt. Es war deshalb eine gewisse Enttäuschung, als die Untersuchung der halogenhaltigen Mineralien der Tabelle V in den meisten Fällen, gerade auch bei den Apatiten, durchaus nicht hohe Werte lieferte. Wir haben aber erst einige wenige Proben untersucht. Es scheint uns nicht ausgeschlossen, daß das Jod in gewissen Gesteinen etwa in Form von Apatit vorliegt. Phosphate finden sich ja in jedem Gestein, in jeder Erde vor. Sie könnten gelegentlich als Apatit das Gestein durchsetzen und die Spuren Jod, die sich darin vorfinden, gebunden halten. Daß die Apatite von Sulzbach und Floitenturm so jodarm sind, wäre dann vielleicht mehr lokalen Ursachen zuzuschreiben. Ein Apatit kann natürlich nur dann jodhaltig sein, wenn bei seiner Entstehung genügend Jod zugegen war.

Wie wir gesehen haben, sind die Urgesteine alle jodhaltig. Es ist klar, daß auch das Jod der Sedimente ursprünglich aus den Urgesteinen stammen muß. Durch Verwitterung der Urgesteine wird ein Teil des Jods ausgelaugt und gelangt mit den Flußläufen in das Meer. Darauf weisen uns ja der Jodgehalt des Meerwassers und der Jodreichtum der Meeresorganismen hin. Daß die Auslaugung aber nur einen Teil des Jods betrifft, lehrt uns die Tatsache, daß die verwitterten Gesteine und ganz besonders die Erden viel jodreicher sind als das ursprüngliche Gestein. Die toten Meeresorganismen führen den Ablagerungen bereits durch ihre Gerüstsubstanzen Jod zu, ob auch durch ihre Leibessubstanz, das wird wohl ganz von den lokalen Verhältnissen abhängen. Verwesen die niedersinkenden Organismen in einem Gebiete, welches reichlich mit Sauerstoff versehen ist, so daß die ganze organische Substanz unter der Mitwirkung von Mikroorganismen oxydiert werden kann, so wird das Jod wahrscheinlich auch mineralisiert werden und wieder in die höheren Zonen des Meeres und in die Pflanzen und Tiere gelangen. Sinken die Meeresorganismen aber in einen sauerstofffreien Schlamm, wo die organische Substanz unter anaeroben Verhältnissen einer Fäulnis oder einer allmählichen Vertorfung oder Verkohlung ausgesetzt ist, so könnte der Jodgehalt eher erhalten werden, wie ja auch fossile Kohlen und Torf jodreich sind. Das würde erklären, daß Ablagerungen derselben geologischen Formation bald jodreicher, bald jodärmer sein können. Durch spätere Vorgänge könnten natürlich unter Umständen die organischen Jodverbindungen in anorganische übergeführt werden.

Beim Diluvium und bis zu einem gewissen Grade auch bei Sandsteinen und Nagelfluh verschiedener Formationen wird wohl hauptsächlich der Jodgehalt des Primärgesteins für den Jodgehalt maßgebend sein, wie ja auch bei den übrigen Sedimenten die Menge und Beschaffenheit des Eindeckungsmaterials quantitativ von Wichtigkeit ist.

Wir haben bei den Aargauer Gesteinen[1]) gesehen, daß beim Übergang der Gesteine in Erde eine Anreicherung an Jod stattfindet. Dieser Befund war so wichtig, daß wir ihn an weiteren Materialien nachprüfen mußten, und zwar an Materialien aus verschiedenen Formationen.

Die Tabelle VI gibt eine Zusammenstellung der Resultate.

Tabelle VI.

Vergleichung des Jodgehaltes verschiedener Gesteine mit den daraus hervorgegangenen Erden.

	Organ. Subst. Proz.	HCl-löslich Proz.	HCl-unlösl. Proz.	γ Jod im kg		
				HCl-löslich	HCl-unlösl.	Summe
1. Gneis, Eggishorn, 2800 m über Meer, anstehend	—	—	unl.	—	380	380
Gneis, Erde	18,6	—	„	—	1320	1320
2. Amphibolit, Gaißpfad, 2475 m über Meer, anstehend	—	—	„	—	380	380
Amphibolit, Erde	24,9	—	„	—	3150	3150
3. Diluvium, Schotter d. letzten Eiszeit, Bern	—	77,9	22,1	310	660	970
Diluvium, Erde	11,0	—	ca. 100	—	—	1570
4. Flysch, Schächental, anstehend	—	9,9	90,1	60	180	240
Flysch, Erde	12,8	32,5	67,5	200	1500	1700
5. Malm, La Chaux-de-Fonds, aus der Erde herausgelesen	—	ca. 100	—	180	—	180
Malm, Erde	18,0	—	—	—	—	6400
6. Malm, Kinzigpaßhöhe, 2076 m über Meer	—	99,2	0,8	1050	780	1760
Malm, Erde	66,0	—	unl.	—	5950	5950
7. Bündnerschiefer, bei Binn	—	—	„	—	380	380
Bündnerschiefer, Erde	16,8	—	„	—	1000	1000
8. Rötidolomit, Erstfelder Kontakt	—	ca. 100	—	940	60	1000
Rötidolomit, Erde	18,3	35,5	64,5	1070	1130	2200

Wenn ein Gestein oder eine Erde mit HCl nicht aufbrauste, bestimmte man den unlöslichen Anteil nicht besonders, sondern nahm ihn als etwa 100 Proz. an, obgleich dies, besonders bei Erden, nicht streng richtig ist. Wenn im umgekehrten Falle nahezu vollständige Lösung eintrat, bestimmte man auch in allen Fällen den kleinen Rest unlöslichen Schlammes.

Wie wir bereits früher[1]) bei den Aargauer Gesteinen gesehen haben, nimmt bei allen kalkhaltigen Sedimenten, die untersucht worden sind, bei der Verwitterung das in HCl Unlösliche gewaltig zu. Es sind überall große

[1]) Siehe vorhergehende Arbeit.

Mengen Calcium- bzw. Magnesiumcarbonat herausgelöst worden. Man könnte sich also bei der Betrachtung dieser kalkhaltigen Sedimente für sich allein vorstellen, die Anreicherung an Jod finde dadurch statt, daß bei der Verwitterung hauptsächlich jodarmes Gestein herausgelöst werde, wodurch sich das Jod im Rückstand in sehr schwer löslicher Form konzentriere. Solche in Wasser schwer lösliche Jodverbindungen wären dann nicht nur im salzsäureunlöslichen Anteil, im Ton, sondern auch im salzsäurelöslichen vorhanden. Das zeigen hauptsächlich die Gesteine der Tabelle II der vorhergehenden Arbeit, welche beim Übergang in Erde gerade auch im salzsäurelöslichen Anteil eine starke Jodzunahme erfahren haben.

Um die Verhältnisse der Jodanreicherung in Gesteinen zu studieren, wurden einige Lösungs- und Adsorptionsversuche ausgeführt. Man wählte als Ausgangsmaterial einen jodreichen Effingerschlamm mit 10000 γ in Salzsäure löslichem Jod im Kilogramm und stellte sich folgende Fragen:

Wieviel Jod wird aus diesem Schlamm durch destilliertes Wasser herausgewaschen und wieviel durch kohlensäurehaltiges?

Löst verdünnte Essigsäure, in geringem Überschuß angewendet, gleich viel Jod aus dem Schlamm wie 20proz., in starkem Überschuß angewendete Salzsäure, oder existieren Jodverbindungen, welche in Wasser und in verdünnter organischer Säure unlöslich und nur in starker Mineralsäure löslich sind?

Wird zugesetztes Kaliumjodid durch den Schlamm adsorbiert?

Man ging vor wie folgt:

1. 40 g Schlamm wurden mit 400 ccm ausgekochten Wassers 2 Stunden lang geschüttelt. Der Schlamm setzte sich nicht ab, ließ sich auch nicht gut filtrieren, sondern mußte durch Zentrifugieren von der wässerigen Lösung getrennt werden. Die schwach opaleszierende Lösung wurde auf Jod geprüft. Man fand 53 γ Jod auf 1 kg Schlamm.

2. 40 g Schlamm wurden mit 400 ccm Wasser versetzt und das Wasser mit CO_2 gesättigt. Man schüttelte wieder 2 Stunden lang. Der Schlamm setzte sich gut ab und ließ sich gut filtrieren. Im Filtrat fand man 41 γ Jod pro Kilogramm.

3. 20 g Schlamm wurden mit kalter, verdünnter Essigsäure in geringem Überschuß behandelt, bis kein Aufbrausen mehr stattfand. Man zentrifugierte, wusch den Rückstand gründlich aus und behandelte ihn nun mit kalter HCl (1 : 1) während 30 Minuten. Es ging nicht die geringste Spur Jod in die Salzsäurelösung.

4. 40 g Schlamm wurden mit 4 γ Jod (d. i. 100 γ Jod pro Kilogramm Schlamm) versetzt und genau wie bei 2 behandelt. Man fand 66 γ Jod pro Kilogramm Schlamm im Wasser.

Sowohl durch gewöhnliches wie durch kohlensäurehaltiges Wasser sind nur Spuren von Jod herausgelöst worden, etwa 0,4 bis 0,5 Proz. des vorhandenen Salzsäurelöslichen. Kalte verdünnte Essigsäure löst genau so viel Jod wie 20proz. Salzsäure. Man kann somit auch nicht annehmen, daß bei der Verwitterung des Gesteins, bei der Auflösung des Kalkes durch Kohlensäure, etwa eine jodreiche Verbindung zurück-

bleibe und daß so die Anreicherung an Jod im salzsäurelöslichen Anteil erfolge. Es verhält sich vielmehr so, daß das Jod zuerst in Lösung geht und gleich wieder durch das verwitterte, hochdisperse Gestein adsorbiert wird.

Der Versuch 4 zeigt, daß eine Adsorption von zugesetztem KJ durch den Schlamm wirklich stattfindet, sonst hätten die 100 zugesetzten Gamma nebst den normalerweise herausgelösten 53 gefunden werden müssen, während man tatsächlich nur 66 γ oder 43 Proz. dieser Menge fand.

Da Jodid durch fein verteiltes Gestein adsorbiert wird, ist es klar, daß auch Erde, je nach ihrem Dispersionsgrad, mehr oder weniger eine solche adsorbierende Wirkung ausüben muß. Wir werden zwar später sehen, daß bei der Erde noch ganz wesentlich eine chemische Bindung des Jods erfolgt.

Aus der Tabelle VI wie auch aus der Tabelle II der vorhergehenden Arbeit sehen wir, daß im allgemeinen bei höherem Gehalt an organischer Substanz eine stärkere Vermehrung des Jodgehaltes bei der Verwitterung erfolgt.

In der nächsten Versuchsreihe suchten wir nun die Adsorption bei einigen weiteren Materialien festzustellen, und zwar wurden saure und basische Gesteine und daraus hervorgegangene Erden in feingepulvertem, zum Teil gebeuteltem Zustande geprüft. Man arbeitete unter ganz anderen Bedingungen als im vorhergehenden Versuch, so daß eine direkte Vergleichung nicht zulässig ist.

Je 8 g Material wurden mit 4 ccm einer KJ-Lösung von 20 mg J in 100 ccm befeuchtet, so daß pro Kilogramm Gestein 100 mg KJ zur Anwendung kamen. Nach sechsstündigem Stehen wurden die Proben mit je 30 ccm Wasser aufgeschüttelt, längere Zeit zentrifugiert und abgegossen. Der Rückstand wurde noch dreimal mit je 20 ccm Wasser geschüttelt, die Aufschwemmung abzentrifugiert und die Flüssigkeit abgegossen.

Die Lösungen waren in einigen Fällen etwas trüb; kleine Substanzverluste hatten sich also nicht überall vermeiden lassen, was bei der Beurteilung der Resultate zu berücksichtigen ist.

Nach dem Zentrifugieren konnte man jeweilen von den vorhandenen 24 ccm ziemlich genau 20 ccm abgießen, also fünf Sechstel der Flüssigkeitsmenge. Daraus berechnet sich, daß von dem zugesetzten Jod, falls keine Adsorption eingetreten wäre, nach der viermaligen Behandlung $\frac{1}{6.6.6.6} = \frac{1}{1296}$ im Rückstand geblieben wäre, eine Menge, die wir vernachlässigen können. Man untersuchte das zurückbleibende Material auf Jod und verglich die Werte mit dem unbehandelten.

In der Tabelle VII sind unsere Resultate zusammengestellt.

Die sauren Gesteine, Bergkristall und Gneis, haben beträchtlich Jod adsorbiert, nicht aber die kalkreichen, Meeresmolasse und Effingermergel. Daß eine Adsorption unter anderen Bedingungen auch hier

Tabelle VII. Jodadsorption durch Gesteine und Erde.

	Organ. Substanz	HCl-Lösliches	Vor der KJ-Behandlung γ Jod im kg			Nach d. KJ-Behandlung γ Jod im kg			Differenz
	Proz.	Proz.	HCl-löslich	HCl-unlösl.	Summe	HCl-löslich	HCl-unlösl.	Summe	
1. Bergkristall, Binnental . . .	—	100	—	—	200	—	—	800	600
2. Gneis, Eggishorn	—	100	—	—	380	—	—	1570	1190
3. Gneis, Erde . .	18,6	—	—	—	1320	—	—	5400	4120
4. Meeresmolasse, Sandstein . . .	—	59,2	150	1450	1600	500	450	950	- 650
5. Meeresmolasse, Erde	4,2	97,8	320	290	620	—	—	4200	3580
6. Dogger, Hauptrogenstein, Erde	12,7	73,3	2710	2230	4940	5300	5750	11050	6110
7. Malm, Effingerschicht., Mergel	—	14,0	5600	2230	7830	5400	750	6150	-1680
8. Dasselbe, Erde	10,4	52,6	7100	4800	11900	5600	3750	9350	-2550

erfolgen kann, haben wir weiter oben an dem Effingerschlamm gezeigt. Je nach den speziellen Versuchsbedingungen wird man natürlich wechselnde Resultate erhalten. Hier sei nur festgestellt, daß die sauren Gesteine die Jodionen besser adsorbieren als die basischen. Das ist auch verständlich, da die entgegengesetzte Ladung der Ionen von Bedeutung sein muß.

Bei den Erden finden wir überall außer beim Malm eine viel stärkere Adsorption als bei den entsprechenden Gesteinen. Auch bei der Erde aus Meeresmolasse mit nur 4,2 Proz. organischer Substanz können wir sie schon konstatieren. Auch hier schreiben wir die Wirkung vorwiegend der sauren Reaktion zu. Nach Versuchen von *B. Schmitz*, Adjunkt an der Schweizer Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Oerlikon, ergab die genannte Molasseerde eine Wasserstoffionenkonzentration von p_H 5,03, die Malmerde von Effingen hingegen p_H 8,12. Die Bestimmungen wurden elektrometrisch in der Suspension und in einer Wasserstoffatmosphäre ausgeführt.

Also auch bei den Erden adsorbiert das saure Material stark, das basische nicht.

Wie haben wir uns nun die Aufnahme des Jods durch die Erde zu denken? Der Fundort einzelner unserer Erdproben zeigt uns mit voller Sicherheit, daß das Jod hier nur aus der Atmosphäre stammen konnte. Die Gneiserde Nr. 2 wurde einer Felsspalte 100 m unter dem Gipfel des Eggishornes in 2800 m Höhe entnommen. Die Erde war dort so selten, daß mühsam zwischen den Felsen danach gesucht werden mußte. Das einzige Wasser, welches diese Erde befeuchten konnte, bestand in atmosphärischen Niederschlägen, in Regen, Schnee, Tau und Reif. Dasselbe gilt von der Amphiboliterde des Gaißpfades und der Malmerde des Kinzigpasses. Beide Erden wurden direkt auf den Paßhöhen 2475 bzw. 2076 m über dem Meere entnommen. Daß so be-

deutende Jodmengen von 1320, 3150, 5950 γ (s. Tabelle VI) in diesen Höhen von der Erde aufgenommen werden können, zeigt uns, worauf bereits früher[1]) bei der Vergleichung der Niederschläge von Adelboden und Bern hingewiesen wurde, daß auch in der Höhe ganz beträchtliche Jodmengen in der Atmosphäre sind, wenn sie schon die in den Niederungen vorhandenen Mengen nicht erreichen. Ferner zeigt es uns, wie wunderbar solche humusreiche Erde das ihr zukommende Jod aufzuspeichern und anzureichern vermag.

Bereits an anderen Orten[2]) wurde bewiesen, daß die Pflanzen ihr Jod nicht nur mit den Wurzeln, sondern auch mit den Blättern, also aus der Luft aufnehmen. Die Erde braucht somit das in der Luft enthaltene Jod nicht nur direkt aus den Niederschlägen zu erhalten, sondern sie kann es auch aus den Pflanzen, die sie trägt, nach deren Absterben bekommen. Das geht daraus hervor, daß die Algen und Flechten, die Pioniere des organisierten Lebens in den Bergen, alle recht jodreich sind, gleichviel, auf welcher Unterlage sie wachsen. In der Tabelle VIII sind einige solche Analysen zusammengestellt.

Tabelle VIII.

Jodgehalte von Flechten und Algen, auf lufttrockene Substanz berechnet.

	Unterlage	γ J im kg
Flechten.		
1. Laubflechte, schwarz, Nähe Hotel Jungfrau, Eggishorn	Gneis	140
2. Laubflechte, rostrot, Mühlebach, Oberwallis	Gneis	200
3. Laubflechte, orangerot, Konolfingen, Kt. Bern	Granitblock	300
4. Laubflechte, schwefelgelb, Nähe Köniz b. Bern	Apfelbaum	480
5. Strauchflechte, silbergrau, Eggishorn, 2900 m über Meer	Gneisboden	310
6. Strauchflechte, isländisch Moos, Gotthardgebiet	Granitboden	310
7. Bartflechte, fadenförmig, verästelt, hellgrün, Ulmizberg bei Bern	abgestorb. Tannenast	240
8. Bartflechte, breitblätterig, hellgr., Ulmizberg	ebenso	500
Algen.		
9. Einzellige Alge, Protococcus viridis (?), Dählhölzli, Bern	Buchenstamm	2420
10. Dieselbe Alge, von anderem Buchenstamm	0,5—0,8 m üb. Boden	1560
11. Dieselbe Alge, von demselben Baum wie 10	1,7—2,1 m üb. Boden	980
12. Spirogyra, 9. März, frisch gewachsen, Bern	Weiher	340
13. Vaucheria, Bern, Nähe Eisenbahnbr., 11. März	Aare	3440
14. Alge von moosartigem Habitus, oberh. Bern, 11. März	Aare	7300
15. Dieselbe Alge, Nähe Eisenbahnbrücke, Bern	Aare	8350

[1]) Diese Zeitschr. **139**, 432, 1923.

[2]) Ebendaselbst **139**, 426, 1923.

Diese Werte gehören zu den höchsten, die bei pflanzlichen Produkten gefunden werden, abgesehen von den Meerespflanzen. Sie können bei Landpflanzen nur erreicht werden, wenn diese sehr langsam wachsen und somit viel Zeit haben, um Jod aufzunehmen. Auf die Art der Unterlage kommt es bei den Flechten nicht sehr an. Bestehe diese nun aus Fels oder aus lebenden oder toten Stämmen oder Ästen — in allen Fällen wird sie kaum merkbare Mengen Jod liefern, da sie solches nicht in verfügbarer Menge in löslichem Zustande enthält. Im Urgestein wäre ja noch verhältnismäßig viel Jod vorhanden. Die Flechten entziehen dem Gestein aber so wenig Material und greifen es nur so oberflächlich an, daß sie kaum merkbare Jodmengen daraus aufnehmen können. Das Jod muß also aus der Atmosphäre kommen. Das zeigt sich auch darin, daß die Höhe über dem Meere einen erkennbaren Einfluß ausübt. Die vier in der Höhe gewachsenen Flechten Nr. 1, 2, 5 und 6 enthalten im Mittel 240, die vier im Flachland gewachsenen Nr. 3, 4, 7 und 8 hingegen 380 γ Jod im Kilogramm.

Unter den Algen haben wir einen einzigen Landbewohner untersucht, und zwar in drei Proben. Es handelt sich um eine einzellige, häufig an Buchenstämmen wachsende Art, wahrscheinlich Protococcus viridis (Nr. 9 bis 11). Die Pflanze läßt sich morgens früh bei taufeuchtem Wetter befriedigend rein mit einem Messer von den Stämmen abschaben. Die endgültige Reinigung geschieht dann durch Sieben durch ein feines Haarsieb.

Eine Probe dieser Alge ergab im Monat März 2420 γ im Kilogramm, also etwa sechs- bis zehnmal mehr als die Flechten. Das mag vielleicht daher rühren, daß diese Pflänzchen noch langsamer wachsen.

Am nächsten Tage wurden zwei weitere Proben derselben Alge von einem anderen Baume entnommen, und zwar die eine Probe wenig über dem Boden, die andere ungefähr in 2 m Höhe. Die tiefere Probe enthielt deutlich mehr Jod als die höhere. Dies ist eine neue Bestätigung meines früher (l. c.) an Thuja erhaltenen Befundes. Er besagt, daß die grünen Pflanzenteile direkt über dem Boden jodreicher sind als in der Höhe, weil sie das stets aus der Erde ausströmende Jod in größerer Konzentration erhalten.

Unter den Süßwasseralgen haben wir eine mit einem relativ niedrigen Wert, zwei andere mit noch viel höheren Gehalten, als wir sie bei der Landalge gefunden haben. Der niedrige Wert betrifft die Spirogyra Nr. 14. Sie wurde am 9. März in einem Weiher mit fließendem Wasser geerntet, nachdem sie erst kurz vorher gewachsen war. In der kurzen Vegetationszeit stand ihr offenbar nicht viel Jod zur Verfügung.

Von den beiden Algen aus der Aare ist die Vaucheria bereits sehr jodreich; die andere Alge übertrifft sie noch um das Doppelte. Diese

letztere Alge wächst an den Uferdämmen der Aare um und in Bern und konnte bei dem niedrigen Wasserstande im März dieses Jahres bequem gesammelt werden. Die in der Stadt selbst gewonnene Probe war jodreicher als die von oberhalb. Wir hatten früher auch das Aarewasser selbst unterhalb Berns etwas jodreicher gefunden als oberhalb der Stadt.

Bei der Verwesung der Landalgen und Flechten gelangt das in ihnen enthaltene Jod in die Erde und bildet den Humus. Gerade die Erde in den Bergen ist meist sehr humus- und auch verhältnismäßig jodreich.

Daß die abgestorbenen Pflanzen ihr Jod nicht so leicht abgeben, haben wir auch früher bei der Untersuchung einer Topinambourpflanze[1]) zu verschiedenen Jahreszeiten gefunden. Man suchte nun zu ermitteln, wie sich der Jodgehalt von Blättern während des Wachstums und nach dem Absterben ändert.

Am 12. Mai wurde im Könizbergwald bei Bern junges Buchenlaub gepflückt. Zugleich sammelte man am Boden dürres, letztjähriges Laub, reinigte es gründlich durch Erlesen und Waschen. Am 16. August entnahm man demselben Baume von neuem Laub. Alle drei Proben wurden untersucht und der Jodgehalt sowohl auf 1 kg trockene Blätter, als auch auf ein Blatt von mittlerer Größe berechnet. Der Jodgehalt des einzelnen Blattes wird in tausendstel Gamma = Gamma-Gamma ($\gamma\gamma$) wiedergegeben. Man fand:

Tabelle IX.

Änderung im Jodgehalt von Buchenlaub beim Altern und nach dem Absterben.

Datum	γ Jod im kg	Mittleres Gewicht eines Blattes	Jodgehalt eines Blattes
12. Mai	13	0,0932 g	1,2 $\gamma\gamma$
16. August . . .	138	0,1230 g	17,1 $\gamma\gamma$
Vorjährig	107	0,0924 g	9,9 $\gamma\gamma$

Der Jodgehalt der Blätter ist im Frühling, kurz nachdem sich die Bäume belaubt haben, noch außerordentlich klein und wächst dann stark an, um bis Mitte August auf das 14fache anzusteigen. Ob er damit sein Maximum erreicht hat, wissen wir nicht. Beim Absterben wird das Jod nicht oder höchstens in geringem Maße zurückgezogen, da es ganz vorwiegend organisch gebunden ist, und zwar in wasserunlöslicher Form. Im nächsten Mai finden wir in dem abgefallenen Laube noch ungefähr die Hälfte des Jods. Es ist vorauszusehen, daß diese organischen Jodverbindungen bei dem allmählichen Übergang des Blattes in Humus gewissen Umsetzungen unterliegen. Sie werden mineralisiert, also in Jodid umgewandelt. Ein Teil des Jodids gelangt

[1]) Diese Zeitschr. 139, 426, 1923.

mit dem Regenwasser in den Boden und tritt im Quellwasser und Flußwasser wieder auf, der Rest wird in elementares Jod übergeführt und entweicht zum Teil in die Luft, wovon wiederum ein Teil durch die Blätter aufgenommen wird. Ein anderer Teil des elementaren Jods wird aber gleich bei seiner Entstehung durch organische Verbindungen des Humus aufgenommen und reichert so die Erde an Jod an.

Zusammenfassung.

Der Jodgehalt der Urgesteine und Sedimente ist beträchtlich, verglichen mit dem der meisten pflanzlichen und tierischen Produkte. Das Jod ist zum Teil in säurelöslicher, zum Teil in säureunlöslicher Form vorhanden. Durch Wasser wird nur wenig herausgelöst. Das säurelösliche Jod wird für die Versorgung der Pflanzen mit diesem Element für wichtiger angesehen als das säureunlösliche, da es leichter abgegeben wird.

Der Jodgehalt steht in keinem genaueren Zusammenhang mit der geologischen Formation. Gesteine aus derselben Formation können je nach der Lokalität recht verschieden jodhaltig sein. In petrefaktenführenden Schichten wurde mehr Jod gefunden als in petrefaktenfreien. Die Zahlen sind aber noch zu wenig zahlreich, um sagen zu können, ob dies eine Regel ist.

Bei den rezenten Meerestieren enthalten nicht nur die Weichtiere Jod, sondern auch die Schalenteile. Ein Teil davon ist säurelöslich und anorganisch, ein Teil ist organisch.

Bei den Mineralien finden wir sehr verschiedene Jodgehalte. Außerordentlich jodreich waren zwei Proben Rotkupfererz von Cornwall und von Australien. Bei gleichen Mineralien verschiedener Herkunft fand man in der Regel ähnliche Gehalte, andererseits wieder starke Verschiedenheiten bei chemisch ähnlichen, mineralogisch unterscheidbaren Mineralien, wie bei den Quarzen. Halogenhaltige Mineralien zeichneten sich nicht durchweg durch besonders hohen Jodgehalt aus. Bei der Metamorphose der Mineralien kann Vermehrung durch Jodaufnahme aus der Umgebung (Pyrit in Brauneisenstein) oder Verminderung durch Jodabgabe an die Umgebung (Cuprit in Kupfer) eintreten.

Die Bindung des Jods in den Mineralien, Gesteinen und Erden kann verschieden erfolgen: an gewisse Schwermetalle kann es direkt als unlösliches Jodid gebunden sein, in Mineralien der Apatitgruppe und gewissen anderen halogenhaltigen Mineralien ist komplexe Bindung wahrscheinlich. Sie mag auch bei Gesteinen und Erden auftreten. In den meisten Fällen glauben wir Einlagerung und Adsorption von löslichen Jodiden der Alkalien und alkalischen Erden annehmen zu müssen.

Die Gesteine reichern sich in der Regel bei der Verwitterung an Jod an. Noch weit jodreicher als die verwitterten Gesteine sind die daraus hervorgegangenen Erden. Bei den Erden erfolgte die Anreicherung außer durch Adsorption auch durch Anlagerung von elementarem Jod an die organische Substanz. Saure Gesteine und Erden adsorbieren leichter Jodionen als basische. Die Erden erhalten ihr Jod zum Teil von verwesenden Pflanzen, welche es nicht nur aus der Erde selbst, sondern auch aus der Luft aufnehmen (Flechten und Algen). Totes Pflanzenmaterial gibt sein organisch gebundenes Jod beim Verwesen nur sehr allmählich ab.

Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur.

VIII. Mitteilung:

Über das Freiwerden elementaren Jods aus Erde.

Von

Th. v. Fellenberg, H. Geilinger und K. Schweizer.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes in Bern.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

Es ist bereits früher[1]) von dem einen von uns bewiesen worden, daß elementares Jod aus der Erde aufsteigt und sich der Atmosphäre mitteilt. Es zeigte sich nun, daß, wie erwartet, die Erde die Fähigkeit hat, aus Jodiden Jod frei zu machen. Versetzt man beispielsweise Erde in einer bedeckten Glasschale mit einer 1- bis 2proz. KJ-Lösung und hängt einen Stärkestreifen darüber, so wird dieser bereits nach Stunden gebläut. Am nächsten Tage läßt sich das Jod schon durch den Geruch erkennen. Daneben tritt oft auch Jodoformgeruch auf.

Dieser Vorgang ist von großer Wichtigkeit für den Kreislauf des Jods. Er ist auch von Bedeutung für den Jodhaushalt der Pflanzen. Wir suchten ihn deshalb etwas gründlicher zu studieren. Wenn eine Erde alles Jod frei macht, welches ihr in Form von Jodiden etwa durch das Wasser zugeführt wird, und das freie Jod, welches sie durch die Niederschläge erhält, auch nicht zu binden vermag, so wird sie den auf ihr wachsenden Pflanzen durch die Wurzeln weniger Jod mitteilen können. Das aufsteigende Jod kann dann allerdings durch die Blätter teilweise aufgenommen werden, der größte Teil davon entweicht aber mit den Luftströmungen. Eine Erde, welche viel Jod bindet und wenig in elementarer Form frei macht, ist für die Pflanzen jedenfalls eine bessere Jodquelle, gleichen ursprünglichen Jodgehalt der Gesteine und des zufließenden Wassers vorausgesetzt, als eine, welche wenig Jod bindet und viel frei macht.

Wodurch wird nun die Jodabspaltung aus Jodiden bewirkt? Man konnte an anorganische Oxydationsmittel, wie salpetrige Säure, oder an Katalysatoren, wie Eisen- oder Manganverbindungen denken. Es konnten aber auch Mikroorganismen oder von solchen gebildete Enzyme, vielleicht ganz allgemein Oxydasen, in Betracht kommen.

---

[1]) *Th. von Fellenberg*, diese Zeitschr. **139**, 423, 1923.

Zu den grundlegenden Versuchen dienten hauptsächlich zwei Erdproben, welche uns vom Zentralverwalter der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten, Herrn Dr. *A. Schmid*, in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt worden sind. Es sind dies eine gedüngte und eine ungedüngte Erde von der Versuchsanstalt Liebefeld. Die geologische Unterlage des Liebefeldes ist Diluvium und besteht aus den Schottern der letzten Eiszeit.

Die ungedüngte Erde (Wiesenland) liegt seit 25 Jahren brach. Es wird dort auch nicht geweidet. Die gedüngte Erde hatte als letzte Kultur Topinambour getragen. Im Frühling 1923 war sie pro Hektar mit 366 hl Jauche, 800 q Stallmist, 300 kg Thomasmehl und 333 kg Kalisalz gedüngt worden. Die Probeentnahme erfolgte am 18. Mai 1923. Die Versuche wurden alle in der nächsten Zeit durchgeführt.

Außer diesen beiden Erden benutzten wir einige bereits in den vorhergehenden Arbeiten besprochene.

Man versetzte verschieden vorbehandelte Erdproben bald unter aeroben, bald unter anaeroben Verhältnissen mit Jodkalium und prüfte auf Freiwerden von Jod. In manchen Fällen begnügte man sich mit dem qualitativen Nachweis durch in die Gefäße eingehängte Stärkestreifen und beobachtete die Zeit, die bis zur Blaufärbung verstrich, und die Intensität der Färbung; in anderen Fällen saugte man Luft oder Kohlendioxyd über die mit Jodkaliumlösung befeuchteten Proben und absorbierte das entwickelte Jod in Pottaschelösung, um es quantitativ zu bestimmen.

Wir vermuteten zuerst, die Wirkung könnte durch salpetrige Säure hervorgerufen werden. Allerdings zeigte es sich dann bald, daß ungedüngte Erde in der Regel bedeutend mehr Jod frei macht als gedüngte, während man die Anwesenheit von salpetriger Säure eher in der gedüngten Erde vermuten sollte. Man prüfte folgendermaßen auf salpetrige Säure. Je 50 g feuchte Erde vom Liebefeld wurden ohne Kaliumjodidzusatz in Erlenmeyerkolben gebracht. Streifen von Jodkaliumstärkepapier wurden hineingehängt und die Kolben bei 32° aufgestellt. Weder bei ungedüngter, noch bei gedüngter Erde wurde innerhalb zwei Tagen die geringste Bläuung wahrgenommen. Auch beim Andrücken des Papieres an die Erde bläute es sich nicht. Demnach wäre salpetrige Säure als Ursache der Jodentwicklung wenigstens bei diesen Erden auszuschalten.

Man suchte nun noch durch eine größere Versuchsreihe festzustellen, ob etwa Bakterien imstande sind, aus Jodid Jod frei zu machen, wenn man ihnen einerseits Nitrat zur Verfügung stellt und andererseits durch die Gegenwart von Dextrose dafür sorgt, daß Säure entstehen kann, welche aus dem entstandenen Nitrit salpetrige Säure bilden kann.

Als Nährboden wählte man Nähragar mit 0,7 Proz. Stärke, 0,86 Proz. Dextrose, 0,0086 Proz. KNO_3 und wechselnde Mengen KJ von 0,002, 0,01 und 0,05 Proz. Die Stärke sollte als Indikator für das entstehende Jod dienen.

Man verwendete folgende Mikroorganismen: Bact. coli, zwei Stämme, Bact. lact. aerogenes, Actinomyces chromogenes, Rötelbakterien (Bact. erythrogenes), Bact. fluorecens, Bact. vulgare, Bact. mycoides. Ferner wurde auch mit einer Aufschwemmung einer frischen Erdprobe von einem Wegbord geimpft. Es wurden mit dem genannten Nährboden Platten gegossen und Aufstriche der Bakterienkulturen gemacht.

Innerhalb 8 Tagen trat nirgends eine Reaktion auf. Wurde aber eine Platte mit Jod-Jodkaliumlösung betupft, so erhielt man sogleich dunkelblaue Flecken, die aber nach ½ bis ¾ Stunden wieder verschwanden. Das zeigte uns, daß auch das eventuell durch die Bakterien frei gewordene Jod gleich wieder durch den Nährboden gebunden wurde. Die Versuche sind nicht entscheidend über die Frage, ob Bakterien Jod frei machen können, aber sie zeigen uns, daß organische Substanz die Entwicklung freien Jods unter Umständen stark hemmen kann. In einer porösen Erde, die der Luft freien Zutritt gestattet, braucht natürlich die Hemmung nicht so groß zu sein wie bei diesen Plattenversuchen, wo die Luft nur die Oberfläche einer kompakten Schicht bestreichen konnte.

Da die Frage nach der Mitwirkung der Bakterien oder deren Enzyme bei der Entwicklung von Jod aus Erden auf diese Weise nicht zu entscheiden war, suchten wir ihr auf andere Weise näherzutreten. Man behandelte die ungedüngte Erde vom Liebefeld mit verschiedenen bakterienschädigenden Agenzien und untersuchte danach ihre jodabspaltende Wirkung. Als bakterienschädigend wurde feuchte Hitze angewandt, als bakterienwachstumshemmend, die Enzyme aber nicht schädigend, Toluol. Das Toluol, 5- und 0,5proz., verblieb während der ganzen Versuchsdauer darin. Der Nachweis des Jods geschah durch eingehängte Stärkestreifen. Die Resultate sind in der Tabelle I wiedergegeben, wobei die positive und negative Reaktion mit + und — bezeichnet ist.

Tabelle I.

Jodentwicklung aus ungedüngter Erde vom Liebefeld nach Behandlung mit feuchter Hitze und mit Toluol.

	Kontrolle	1/2 Std. strömender Dampf	1/2 Std. 120° C	Toluol 0,5 Proz.	Toluol 5 Proz.
2½ Std.	++	—	—	+	—
5½ „	+++	+	—	++	(+)
22 „	+++	++	++	++	+
2 Tage	+++	++	++	++	++
Neue Stärkestreifen eingehängt.					
3 Std. später	+++	+	—	+	(+)
6 „ „	+++	++	(+)	++	+
2 Tage „	+++	++	++	++	++
4 „ „	+++	++	++	++	++
7 „ „	Neue Stärkestreifen				
5 Std. später	+++	++	(+)	++	++

Keimzahlbestimmungen ergaben folgendes:

	Versuchsbeginn	6 Tage später
Kontrolle	780 000	500
1/2 Std. strömender Dampf	100	0
1/2 „ 120° C (Autoklav)	300	0
Toluol 0,5 Proz.	450 000	4000
„ 5 „	—	7000

Die Kontrolle entwickelt nicht nur mit unverminderter, sondern sogar mit beschleunigter Schnelligkeit Jod. Als nach 2 Tagen der Stärkestreifen erneuert wurde, war er 3 Stunden später dunkler gefärbt als am Anfang nach ungefähr derselben Zeit; selbst nach 14 Tagen sehen wir noch keine Abnahme der Wirkung. Dabei ist die Keimzahl während der ersten 6 Tage von 780000 auf 500 zurückgegangen, offenbar durch die schädigende Wirkung des entwickelten Jods. Daß trotzdem das Freiwerden von Jod stets andauert, zeigt uns, daß Bakterien dabei kaum beteiligt sind. Das geht auch aus den übrigen Versuchen hervor. Durch die feuchte Hitze bei 100 und bei 120° haben wir eine nahezu vollständige Abtötung der Bakterien erreicht. Trotzdem findet eine Jodentwicklung statt, die der Kontrolle nicht sehr nachsteht und die auch weiter anhält, nachdem innerhalb der ersten 6 Tage alle Bakterien abgestorben sind. Bei Zusatz von Toluol ist die Keimzahl um nicht ganz die Hälfte gesunken; davon bleibt nach 6 Tagen noch 1 Proz. zurück. Die kontrollierbare Jodentwicklung ist ähnlich wie nach dem Erhitzen im strömenden Dampf. Ähnlich verhält sich die Probe mit 5 Proz. Toluolzusatz. Wir sprechen hier von kontrollierbarer Jodentwicklung, weil ein Teil des Jods sich im Toluol gelöst und sich so der Reaktion entzogen haben könnte.

Unsere Versuche sprechen somit weder für die Tätigkeit von Bakterien, noch machen sie die Wirkung von organischen Enzymen wahrscheinlich, obgleich sie diese auch nicht ganz ausschließen.

In einer weiteren Versuchsreihe suchten wir nun die bakterien- und enzymschädigenden Einflüsse auf die Spitze zu treiben, um die Frage, ob Enzyme oder anorganische Katalysatoren die besprochene Wirkung ausüben, möglichst zu entscheiden. Dieselbe ungedüngte Erde vom Liebefeld, wie in der vorhergehenden Versuchsreihe, wurde benutzt. Man setzt sie verschiedenen Hitzewirkungen aus, von denen anzunehmen war, daß sie ein Enzym vernichten würden. Auch wo trocken erhitzt wurde, handelte es sich in Wirklichkeit um ein zum Teil feuchtes Erhitzen, da die Erde am Anfang 17 Proz. Wasser enthielt.

Nach dem Erhitzen setzte man 2 Proz. Kaliumjodid als sterile, wässerige Lösung hinzu und hängte sterile Stärkestreifen in die Kölbchen.

Tabelle II.

Jodentwicklung aus ungedüngter Erde vom Liebefeld nach verschiedenartiger Sterilisation.

	Kontrolle	1 Std. 120°C feucht	1 Std. 120°C feucht, dann 4 Std. 110°C trocken	1 Std. 160°C trocken	6 Std. 110°C trocken	Geglüht
16 Std. .	+++	—	—	+	(+)	+++
5 Tage .	+++	—	—	++	++	+++
7 „ .	+++	—	—	++	++	+++

Die Sterilitätsprüfung ergab bei dem Versuch mit sechsstündigem Erhitzen auf 110° vier Kolonien auf eine große Platinöse (etwa 0,01 g), bei der Kontrolle 30 Kolonien. Alle übrigen Proben waren steril.

Die feuchten Erhitzungsarten hatten eine starke Schädigung zur Folge. Bedeutend weniger wirkte trockenes Erhitzen. Die geglühte

Erde endlich war in ihrer Wirkung nicht nur nicht gehemmt, sondern sie reagierte sogar noch bedeutend stärker als die Kontrolle. Es geht dies aus der Tabelle nicht hervor, da wir bei der Andeutung der Stärke der Reaktion nicht über drei Kreuze hinausgehen.

Unsere Versuche zeigen, daß nur anorganische Katalysatoren für die jodabspaltende Wirkung der Erde angesprochen werden müssen. Die Wirkung der verschiedenen Erhitzungsarten läßt sich folgendermaßen befriedigend erklären.

Bei der Reaktion der unveränderten Erde gelangt nicht das ganze in Freiheit gesetzte Jod zur Beobachtung. Ein Teil wird durch die organischen Bestandteile der Erde gebunden, wie wir dies bereits bei den Bakteriennährböden gesehen haben. Daher reagiert auch gedüngte Erde scheinbar weniger als ungedüngte. Es ist mehr organische Substanz da, somit wird ein großer Teil des Jods abgefangen. Aus demselben Grunde nimmt die Reaktion im Laufe der Zeit zu. Die organischen Substanzen werden mehr und mehr jodiert und stören die Reaktion daher immer weniger. Beim feuchten Erhitzen findet eine Dispersitätserhöhung der organischen Substanz statt. Gemäß der Erhöhung der Oberfläche sind nun mehr jodierbare Teile der Wirkung des Jods ausgesetzt. Es wird mehr Jod abgefangen: die Reaktion tritt schwächer auf. Beim trockenen Erhitzen mag ebenfalls durch Austrocknen und Zerfallen der Klümpchen eine gewisse Dispersitätserhöhung eintreten, welche dieselbe Wirkung, aber in schwächerem Grade, zur Folge hat. Wird schließlich die Erde geglüht, werden die organischen Substanzen zerstört, so fällt die Hemmung weg und die Reaktion wird stärker als in der ungeglühten Erde.

Folgende Versuchsreihe sollte die Frage entscheiden, ob bei der Jodabspaltung die Anwesenheit von Luft notwendig ist. Man arbeitete 1. unter möglichst aeroben, 2. unter halb aeroben und 3. unter möglichst anaeroben Verhältnissen und verwendete als Untersuchungsobjekt die beiden Erden vom Liebefeld nach dem Sieben durch ein Drahtsieb von 4 mm Maschenweite. Als Jodidzusatz nahm man 0,2 und 2 Proz. KJ und stellte daneben blinde Versuche mit Wasser allein auf. Die Versuche wurden bei 21 und bei 32^0 ausgeführt.

1. Im Erlenmeyerkölbchen von 200 ccm Inhalt wurden je 100 g Erde mit 0,2 bzw. 2 g in wenig Wasser gelöstem Kaliumjodid verknetet und gründlich durchgemischt. Die Kölbchen wurden nach Einhängen eines Stärkepapierstreifens mit einem Wattebausch verschlossen.

2. Man setzte zu je 75 g Erde dasselbe Quantum 0,2 bzw. 2 proz. Kaliumjodidlösung, so daß diese einige Kubikzentimeter über der Erde stand. Die Prüfung erfolgte durch Eintauchen eines Stärkepapierstreifens.

3. Ein Brei von zwei Teilen Erde und einem Teil Flüssigkeit wurde in enghalsige 100-ccm-Meßkolben bis in die Mitte des Halses hineingebracht und der Kolben bis oben mit KJ-Lösung aufgefüllt. Die Prüfung erfolgte auch hier durch Eintauchen von Stärkepapierstreifen.

Die Resultate sind in der Tabelle III wiedergegeben.

Tabelle III. Jodentwicklung aus KJ durch ungedüngte und gedüngte Erde vom Liebefeld bei verschiedenem Luftzutritt.

Temperatur °C	Zeitdauer	Ohne KJ	0,2 Proz. KJ	2 Proz. KJ
A. Mit ungedüngter Erde. 1. Möglichst aerobe Verhältnisse.				
21	$2^1/_2$ Std.	—	Beginn der Bläuung	Beginn der Bläuung
	7 „	—	intensiv blau	intensiv blau
	24 Tage	—	„ „	„ „
32	24 Std.	—	+++	+++
	(innerhalb kürzerer Zeit nicht beobachtet)			
2. Halb aerobe Verhältnisse.				
21	24 Std.	—	—	+
	3 Tage	—	—	+
	5 „	—	—	++
32	24 Std.	—	—	+
	3 Tage	—	—	+
	5 „	—	—	+
3. Möglichster Luftabschluß.				
21	24 Std.	—	—	+
	3 Tage	—	—	+
	5 „	—	—	+
32	24 Std.	—	—	—
	3 Tage	—	—	—
	5 „	—	—	Spur
B. Mit der gedüngten Erde. 1. Möglichst aerobe Verhältnisse.				
21	7 Std.	—	—	—
	24 „	—	—	+
	2 Tage	—	—	++
	6 „	—	+	+++
	23 „	—	nicht beobachtet	nicht beobachtet
32	24 Std.	—	—	++
	2 Tage	—	+	+++
	6 „	—	+	+++
	23 „	—	nicht beobachtet	nicht beobachtet
2. Halb aerobe Verhältnisse.				
21	2 Tage	—	—	—
	6 „	—	—	—
32	2 „	—	—	—
	6 „	—	—	—
3. Möglichster Luftabschluß.				
21	2 Tage	—	—	—
	6 „	—	—	—
32	2 „	—	—	—
	6 „	—	—	—

Unsere Versuche haben folgendes ergeben:

Bei gutem Luftzutritt erfolgt bei beiden Erden Jodabspaltung, bei der ungedüngten Erde tritt sie aber schneller und in viel stärkerem Maße auf. Bei mangelhaftem Luftzutritt ist die Entwicklung bei der ungedüngten Erde noch ziemlich stark, bei der gedüngten ist sie ganz

ausgeblieben. Unter möglichstem Luftabschluß, der sich aber wohl nicht völlig erreichen ließ, haben wir bei der ungedüngten Erde immer noch eine gewisse Wirkung, nicht aber bei der gedüngten. Bei der ungedüngten Erde war die Jodentwicklung bei 21° eher energischer als bei 32°, bei der gedüngten Erde scheint die höhere Temperatur begünstigend gewirkt zu haben.

Man suchte nun auf folgende Weise eine ungefähre Bestimmung des entwickelten Jods durchzuführen.

Große Doppelschalen von 20 ccm Durchmesser wurden mit je 1 kg Erde beschickt und mit Kaliumjodidlösung befeuchtet. Auf die Erde legte man ein kleines Schälchen mit Pottaschelösung zur Aufnahme des frei gewordenen Jods. Die Versuche mit ungedüngter und gedüngter Erde sind hier allerdings nicht genau zu vergleichen, weil die Versuchsdauer aus äußeren Gründen verschieden lang war.

Tabelle IV.

Quantitative Bestimmung der Jodentwicklung aus ungedüngter und gedüngter Erde.

°C	0 KJ	0,2 KJ	2 KJ
Ungedüngte Erde. Untersuchung nach 2 Tagen.			
21	0	10,6 mg J	mißglückt
32	0	10,9 „ J	14,2 mg J
Gedüngte Erde. Untersuchung nach 8 Stunden.			
32	0	0,025 mg J	0,059 mg J

Die entwickelten Jodmengen sind bei der ungedüngten Erde enorme.

Man versuchte nun, den Verlauf der Jodentwicklung durch Erde auf genauere Weise zu verfolgen, indem man je 20 g mit 2proz. KJ, gelöst in wenig Wasser, versetzte und Luft bzw. Kohlendioxyd in langsamem Strome darüberleitete. Die Luft wurde durch 10proz. Pottaschelösung, die CO_2 durch Pottasche-Pyrogallollösung gewaschen. Hinter die Flasche mit Erde wurde in beiden Fällen eine Waschflasche mit 10proz. Pottaschelösung geschaltet, um das entwickelte Jod zu absorbieren. Jeden Tag wechselte man die Vorlagen und bestimmte das Jod darin. Nach einer gewissen Zeit wurden die Flaschen mit Erde vertauscht, so daß nun das CO_2 durch die Flasche strich, durch welche vorher die Luft geleitet worden war und umgekehrt. Man fand folgende Werte (Tabelle V).

Die Jodentwicklung ist nicht konstant, sondern sie steigt von Tag zu Tag außerordentlich an, und zwar mit einer gewissen Regelmäßigkeit, wenn wir von einigen zufälligen Abweichungen absehen, die daher rühren, daß der Luftstrom nicht immer genau gleich zu regulieren war. Der niedrige Wert vom 12. Tage kommt von einem Stillstand des Luftstroms. Am 14. bis 15. Tage schien eine Verminderung in der Entwicklung eintreten zu wollen. Es ist möglich, daß auch hier dieselbe Zufälligkeit eine Rolle spielte. Als die Luft durch CO_2 ersetzt

Tabelle V. Tägliche Kontrolle der Jodentwicklung aus 20 g mit 2proz. KJ versetzter ungedüngter Erde vom Liebefeld beim Durchleiten von Luft bzw. Kohlendioxyd.

Zeit	γ J beim Überleiten von	
	Luft	CO_2
1. Tag	45,7	29,7
2. „	180	22,2
3. „	178	73,6
4. „	374	57,7
5. „	377	47,8
6. „	500	25,7
7. „	645	15,9
8. „	730	15,2
9. „	823	19,8
10. „	950	18,8
11. „	920	10,5
12. „	277	11,3
13. Tag	1038	14,5
14. „	974	27,7
15. „	752	43,5

Zeit	Wechsel des Gasstroms	
	CO_2	Luft
16.—17. Tag	nicht bestimmt	
18. „	142	415
19. „	95	614
20. „	89	446

wurde, sanken die Werte rasch. Sie waren aber im Vergleich zu der mit CO_2 begonnenen Versuchsreihe immer noch sehr hoch. Es scheint demnach, daß eine Sauerstoffreserve, etwa in Form eines Oxyds oder Superoxyds, unter dem Einfluß des Kaliumjodids angelegt worden ist, welche nun weiter wirken konnte.

Die Versuche mit Kohlendioxyd ergaben im ganzen ziemlich konstante Werte. Einem gewissen Ansteigen vom dritten bis fünften Tage folgt ein Abfallen auf etwa die Hälfte des ursprünglichen Betrages. Auch hier dürfte eine langwirkende Sauerstoffreserve in irgend einer Form vorhanden sein, welche unter Vermittlung irgend eines Katalysators die Oxydation zustande bringt. Das Ansteigen in dieser Versuchsreihe am 14. und 15. Tage läßt sich nicht erklären. Es mag vielleicht durch einen äußeren Umstand, etwa durch ein Lockern des Stöpsels und Eindringen von etwas Luft, bewirkt worden sein.

Als die Kohlensäure mit der Luft vertauscht war, stieg die Jodentwicklung plötzlich stark an, und zwar hatte man bereits nach 3 bis 4 Tagen so viel Jod wie bei der mit Luft begonnenen Versuchsreihe nach 5 bis 7 Tagen.

Beim Wechseln des Gasstroms nach 15 Tagen wurden Erdproben für eine Keimzählung entnommen. Die Proben waren in beiden Fällen steril. Daraus geht hervor, daß die Mikroorganismen durch das entwickelte Jod abgetötet worden sind. Wir sehen also auch hier wieder, daß die Jodentwicklung nicht durch Bakterien zustande gekommen ist.

Unsere Versuchsreihe mit Luftzutritt bestätigt in viel deutlicherer Weise, was wir bereits oben ausgesprochen haben, daß die katalytische Wirkung wegen der allmählichen Jodierung der organischen Substanzen von Tag zu Tag zuzunehmen scheint.

Wir prüften nun eine Anzahl unserer Aargauer Mergel- und Erdproben in gleicher Weise auf ihre Fähigkeit, beim Darüberleiten von Luft Jod abzuspalten.

Tabelle VI.

Bestimmung der Jodentwicklung aus mit K J versetzten Aargauer Mergeln und Erden.

Effingerschichten, Effingen Zeit	Mergel γ J	Erde γ J
1. Tag	1,2	4,0
2. „	2,7	15,6
3. „	3,5	12,5
4. „	5,2	55,3
5. „	—	116,0

Hauptrogenstein, Hornussen Zeit	Gehängeschutt γ J	Erde γ J
1. Tag	68	4,8
2. „	225	4,4
3. „	118	3,1
4. „	—	3,5
5. „	376	7,9

Muschelkalk, Kaisten Zeit	Verwittertes Gestein γ J	Erde γ J
1. Tag	1,0	3,5
2. „	2,8	18,9
3. „	6,4	2,5
4. „	3,4	25,7
5. „	2,3	—

Oberer Dolomit, Kaisten Zeit	Verwittertes Gestein γ J	Erde γ J
1. Tag	5,2	3,1
2. „	1,2	10,4
3. „	0,9	8,0
4. „	3,8	7,3
5. „	—	7,9

Untere Süßwassermolasse, Hunzenschwil Zeit	Sand γ J	Meeresmolasse, Hunzenschwil Walderde γ J
1. Tag	83	205
2. „	133	614
3. „	71	355
4. „	112	475
5. „	73	865

Es ist nicht leicht, einen Überblick über diese Zahlen zu erhalten. Wir haben recht verschiedene Arten von Gesteinen. Zum Teil machen sich fördernde und hemmende Einflüsse auf die katalytische Wirkung geltend.

Der Hauptrogenstein von Hornussen zeichnet sich vor allen anderen Proben durch einen sehr hohen Eisengehalt aus. Der Gehängeschutt ist rotbraun. Seine bedeutende katalytische Wirkung läßt sich offenbar auf seinen Gehalt an Eisenoxyd zurückführen. Die Erde wirkt im Vergleich zum Gehängeschutt außerordentlich schwach. Sie ist nicht mehr rotbraun, sondern mehr grau. Das Eisenoxyd ist hier offenbar zu einer unwirksamen Verbindung reduziert, so daß sich die Erde nun verhält wie eine der anderen.

Bei den übrigen Materialien wirkt die Erde stärker als das verwitterte Gestein, aus welchem sie hervorgegangen ist. Diese Unterschiede können wir aber durch eine Umrechnung zum Verschwinden bringen. Die Erden sind aus den verwitterten Gesteinen unter Herauslösen großer Mengen von Calcium- und Magnesiumcarbonat entstanden. Wenn wir annehmen, diese Carbonate tragen zu der katalytischen Wirkung nichts bei und bilden gewissermaßen nur ein Verdünnungsmittel der wirksamen Substanz, und wenn wir daher die katalytische Wirkung auf carbonatfreies Material umrechnen, erhalten wir ein ganz anderes Bild. In der Tabelle VII ist diese Umrechnung vorgenommen. Wegen der besseren Übersicht haben wir nur das erste Glied unserer Reihen, die Jodentwicklung in den ersten 24 Stunden, berücksichtigt. Wir benutzen den Begriff „spezifische katalytische Wirkung“ und verstehen darunter die Anzahl Gamma Jod, welche aus 1 g mit 2 Proz. KJ versetzter, befeuchteter Erde oder einem entsprechend behandelten verwitterten Gestein innerhalb der ersten 24 Stunden entwickelt wird.

Wir haben die spezifische katalytische Wirkung auf den in Salzsäure unlöslichen Rest umgerechnet, um den Ballast der Carbonate zu beseitigen, und haben die Zahlen nach sinkenden Werten dieser Größe bei den Gesteinen geordnet, während wir die Erden direkt nach den betreffenden Gesteinen anführen.

Unsere Tabelle VII bringt ferner den Jodgehalt und die organische Substanz und schließlich die Wasserstoffionenkonzentration nach Bestimmungen, die Herr *Schmitz* in Oerlikon so freundlich war, auszuführen.

Die weitaus wirksamste Erde, die aus Meeresmolasse stammende, ist zugleich diejenige, welche die höchste Wasserstoffionenkonzentration aufweist, die zweitwirksamste, die Diluvialerde vom Liebefeld, steht auch in bezug auf die Wasserstoffionenkonzentration an zweiter Stelle. Es folgen dann die vier basischen Erden. Unter sich von ähnlicher Wasserstoffionenkonzentration, geben sie auch ähnliche Zahlen. Dies zeigt uns deutlich, daß eine enge Beziehung zwischen der Wasserstoffionenkonzentration und der katalytischen Wirkung besteht; je

Tabelle VII.
Vergleichung der spezifischen katalytischen Wirkung des in HCl Unlöslichen mit einigen anderen Größen.

	HCl-Unlösliches Proz.	Spezifisch katalytisch. Wirkung	Spezifisch katalytisch. Wirkung des HCl-Unlöslichen	γJ im kg	Jodzunahme verwittertes Gestein zu Erde	Organische Substanz	p_H
Hauptrogenstein. Hornussen, Gehängeschutt	24,1	3,40	14,10	2 300	5,93		
Hauptrogenstein, Erde . . .	73,3	0,24	0,325	4 940		12,7	8,00
Meeresmolasse, Hunzenschwil, Erde	97,8	10,25	10,40	620	etwa 1	4,2	5,03
Untere Süßwassermolasse, Hunzenschwil, Sand	90,3	4,15	4,60	310			
Diluvium, Liebefeld, Erde . .	etwa 100	2,30	2,29	950	etwa 1,6	5,8	6,32
Oberer Dolomit, Kaisten, verwittertes Gestein	8,6	0,26	3,03	320	1,95		
Oberer Dolomit, Erde	35,9	0,155	0,43	820		14,1	8,37
Effingerschichten, Effingen, Mergel	14,0	0,06	0,43	7 830	2,2		
Effingerschichten. Erde . . .	52,6	0,20	0,38	11 900		10,4	8,19
Muschelkalk, Kaisten, verwittertes Gestein	13,8	0,05	0,375	540	4,57		
Muschelkalk, Erde	43,0	0,175	0,41	1 970		19,5	8,06

saurer ein Gestein oder eine Erde ist, desto größer ist auch bei sonst gleicher Zusammensetzung die katalytische Wirkung. Wir haben also zwei Faktoren gefunden, welche die katalytische Wirkung begünstigen, freies Eisenoxyd und saure Reaktion.

Wenn wir die spezifische katalytische Wirkung des Salzsäureunlöslichen bei den verwitterten Gesteinen und den daraus hervorgegangenen Erden miteinander vergleichen, so sehen wir außer beim Hauptrogenstein und beim oberen Dolomit nun überall eine schöne Übereinstimmung. Die carbonatfreie Erde wirkt gleich wie das carbonatfreie Gestein. Daraus können wir schließen, daß wirklich die Carbonate, wie oben angenommen wurde, selbst nichts mit der katalytischen Wirkung zu tun haben. Es geht daraus aber auch hervor, daß bei den vorliegenden Erden, abgesehen von den beiden Ausnahmen, die organische Substanz keinen störenden Einfluß auf die katalytische Wirkung ausgeübt hat. Das verwundert uns. Man hatte eigentlich eine Verminderung erwartet, nachdem wir gesehen hatten, daß gedüngte Erde weniger wirkt als ungedüngte, und daß organische Substanzen die Wirkung unter Umständen überhaupt verhindern können. Da hätten doch auch die 10 bis 20 Proz. organische Substanz dieser Erden eine Herabsetzung der Wirkung verursachen sollen. Daß dies im allgemeinen nicht der Fall ist, deutet darauf hin, daß es sehr auf die Art der organischen Substanz ankommen dürfte. Wir haben hier alles ungedüngte

und unkultivierte Erden vom Rande von Aufschlüssen vor uns mit Ausnahme der Effingererde, welche zwar eine Kulturerde, aber eine recht geringe ist. Diese Erden liegen alle in einem gut gelüfteten Zustande vor und enthalten offenbar nicht viel reduzierende Substanzen, welche Jod aufnehmen können. Es mag nun aber auch sein, daß doch eine gewisse Verminderung durch die organische Substanz bewirkt worden wäre, daß sie aber durch eine Erhöhung des Dispersitätsgrades der Erde gegenüber dem zerfallenen Gestein wieder kompensiert worden ist.

Ein Zusammenhang zwischen dem Jodgehalt der Gesteine und Erden mit der katalytischen Wirkung läßt sich nicht erkennen. Hingegen kann man sagen, daß im allgemeinen die relative Zunahme an Jod bei der Verwitterung der Gesteine um so größer ist, je kleiner die spezifische katalytische Wirkung ist. Das läßt sich gut verstehen; denn die Erde kann eben um so mehr Jod binden, je weniger sie frei macht.

Die Erde mit der weitaus höchsten katalytischen Wirkung ist die Molasseerde von Hunzenschwil, aus einer sehr vom Kropf heimgesuchten Gegend[1]). Obgleich das Gestein dort jodreicher ist als in Kaisten, einem Dorfe mit ähnlicher Kropfhäufigkeit, so hat diese Erde doch im Gegensatz zu jener nicht vermocht, ihren Jodgehalt zu vermehren, da offenbar das bei der Verwitterung herausgelöste Alkalijodid zum größten Teil als freies Jod in die Luft entweicht. Wohl aus demselben Grunde ist das Wasser in Hunzenschwil bedeutend jodärmer als das von Kaisten. Das Jod dürfte auch aus dem Wasser schneller entweichen.

Ganz anders steht es mit den Erden mit schwacher katalytischer Wirkung; diese haben ihren Jodgehalt bei ihrer Entstehung aus dem Gestein um das Zwei- bis Fünffache vermehrt. Auch der Hauptrogenstein folgt dieser Regel; seiner Erde mit der schwachen katalytischen Wirkung entspricht eine starke Jodzunahme.

Wir untersuchten auch eine Anzahl gebeutelte Gesteine auf ihre katalytische Wirkung und konnten eine solche bei manchen Urgesteinen und Sedimenten in mehr oder weniger kräftiger Weise feststellen.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß Erden und Gesteine aus zugesetztem Alkalijodid elementares Jod abspalten. Die Reaktion wird weder durch Bakterien, noch durch organische Enzyme bedingt, sondern durch anorganische Katalysatoren. Sie ist an die Gegenwart von Luftsauerstoff gebunden.

Sehr stark wirkte ferrioxydhaltiges Gestein, auch wenn es reich an Erdalkalicarbonat war. Die entsprechende Erde, welche das Eisen

[1]) Siehe vorletzte Arbeit.

vorwiegend in der Ferroform enthielt, wirkte hingegen nur schwach. Bei geringen Eisengehalten wirken im allgemeinen die Gesteine um so energischer, je höher ihre Wasserstoffionenkonzentration ist.

Erden wirken im allgemeinen ungefähr gleich stark wie die Gesteine, aus welchen sie entstanden sind, wenn wir in beiden Fällen die Wirkung auf erdalkalicarbonatfreies Gestein umrechnen.

Gedüngte Erde entwickelt scheinbar weniger Jod als ungedüngte, da ein Teil des abgespaltenen Jods durch die organische Substanz des Düngers aufgenommen wird.

Die katalytische Wirkung der Erde ist von Bedeutung für die Jodspeicherung beim Übergang des Gesteins in Erde. Erden mit starker katalytischer Wirkung speichern im allgemeinen weniger Jod als solche mit schwacher Wirkung. Eine Meeresmolasseerde aus einer kropfverseuchten Gegend (Hunzenschwil) zeigte weitaus die stärkste Wirkung unter den untersuchten Erden. Eine Erde aus nahezu kropffreier Gegend (Effingen) rangierte hingegen unter denen mit geringer katalytischer Wirkung.

Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur.

IX. Mitteilung:

Über Jodabspaltung und Jodspeicherung durch Mikroorganismen.

Von

Th. v. Fellenberg und H. Geilinger.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes in Bern.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

In der vorhergehenden Arbeit haben wir gesehen, daß Bakterien wohl kaum mitbeteiligt sind an der Entwicklung von Jod aus Jodiden durch die Erde. Ganz abgeklärt war die Sache aber nicht. Eine Mitbeteiligung in geringerem Grade neben den anorganischen Katalysatoren wäre doch noch möglich gewesen. Auch ist ja nur unter ziemlich eng begrenzten Bedingungen gearbeitet worden. Hier suchten wir nun durch Versuche in vitro eine solche Jodabspaltung nachzuweisen. Gleichzeitig wurde die andere, nicht minder wichtige Frage bearbeitet, ob Bakterien oder Schimmelpilze aus Jodiden Jod aufzunehmen vermögen. Diese Frage hat ein zweifaches Interesse. Einmal ist es möglich, daß bei der Zunahme des Jodgehaltes beim Übergang der Gesteine in Erde Bakterien mitbeteiligt sind, daß das Jod der Erde also zum Teil an Bakterien gebunden ist. Sodann wäre es wichtig, zu erfahren, ob Darmbakterien Jod speichern, wodurch dem Organismus das in den Speisen enthaltene Jod entgehen könnte.

Wir können uns eine Jodspeicherung aus Jodid auf zwei Arten denken. Entweder wird das Jodid direkt aufgenommen und dem Organismus der Bakterie einverleibt, oder es wird, sei es auf dem Umwege über Jodwasserstoffsäure oder direkt, zu Jod oxydiert, und dieses reaktionsfähige Element verbindet sich mit der Substanz des Mikroorganismus.

Es zeigte sich nach einigen Vorversuchen, daß es bei diesen Untersuchungen sehr auf Einhaltung einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration ankommt. Bei der außerordentlichen Sauerstoffempfindlichkeit der Jodwasserstoffsäure mußte damit gerechnet werden, daß in sauren Medien bereits durch die Einwirkung der Luft allein eine Jodabspaltung erfolge. War dies der Fall, so konnte man nicht mehr von einer Aufnahme von Jodid durch die Bakterien sprechen, sondern von einer Aufnahme von elementarem Jod.

In der folgenden Versuchsreihe wurde erstens einmal die Jodabspaltung in wässeriger Lösung bei bestimmten Wasserstoffionenkonzentrationen untersucht. Dann führte man dieselben Versuche nach Zusatz von Bakterienaufschwemmungen durch. Das Medium bestand aus 0,7 Proz. NaCl, 0,5 Proz. KJ und 0,003 Proz. Stärke. Gemäß dem Molekulargewicht des Kaliumjodids ist diese Lösung ziemlich genau physiologisch isoton.

Stickstoffhaltige organische Nährsubstanzen wurden absichtlich vermieden, um die Verhältnisse nicht dadurch zu komplizieren, daß frei gewordenes Jod sich mit diesen verbinden könnte. Natürlich konnte eine starke Vermehrung der Mikroorganismen auf diese Weise nicht erwartet werden. Es war deshalb auch nur in einem Falle möglich, die abzentrifugierten und gewaschenen Bakterien auf Jod zu untersuchen.

1. *Reaktion der wässerigen Lösung ohne Bakterien.* Man stellte die Lösungen durch Zusatz von n/10 HCl bzw. n/10 NaOH auf folgende Wasserstoffionenkonzentrationen ein: p_H = 2,7, 6,0 (mit HCl), 7,0 (neutral), 8,0 (mit NaOH). Je 10 ccm der Lösungen wurden in Reagenzgläser gebracht.

Ein Teil der Röhrchen wurde aerob gehalten und mit Wattepfropfen verschlossen. Ein anderer Teil sollte anaerob gehalten werden. Sie wurden vor dem Zusatz der Kaliumjodid- und der Stärkelösung 30 Minuten im kochenden Wasserbade erhitzt und dann abgekühlt. Dabei veränderte sich die Wasserstoffionenkonzentration wie folgt:

p_H vor dem Auskochen	2,7	6,0	7,0	8,0
p_H nach „ „	2,9	6,2	7,15	7,85

Die aeroben Röhrchen wurden kräftig geschüttelt, die anaeroben sofort mit *Wright-Burri*-Verschluß versehen und dann gemischt. Die Proben wurden 24 Stunden im diffusen Licht, dann im Dunkeln aufbewahrt.

Bald nach der Mischung zeigte sich im aeroben Röhrchen mit p_H 2,7 eine ganz schwache Lilafärbung, die nur beim senkrechten Durchsehen gegen eine weiße Unterlage sichtbar war. Am nächsten Tage waren auch in drei weiteren Fällen Spuren von Färbung beim senkrechten Durchblicken zu sehen. Die Tabelle I bringt die Resultate.

Tabelle I.

Reaktionen von wässerigen KJ-Lösungen bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration.

<table>
<tr><th rowspan="2">Zeit</th><th colspan="4">Aerob</th><th colspan="4">Anaerob</th></tr>
<tr><th>p_H 2,7</th><th>5,7</th><th>7,0</th><th>8,0</th><th>2,7</th><th>5,7</th><th>7,0</th><th>8,0</th></tr>
<tr><td>1 Tag</td><td>sehr schwach lila</td><td rowspan="4">sehr schwach schmutzig verfärbt</td><td>—</td><td rowspan="4">sehr schwach schmutzig verfärbt</td><td rowspan="4">sehr schwach lila</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>5 Tage</td><td>etwas deutlicher lila</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>7 „</td><td>deutlicher blau, auch bei horizontaler Durchsicht</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>13 „</td><td>blauviolett</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
</table>

Unter aeroben Verhältnissen ist überall, außer bei der neutralen Probe, eine schwache Jodabspaltung erfolgt; bei der am sauersten eingestellten Probe hat sich diese mit der Zeit stark vermehrt.

Die Verfärbung der alkalischen Probe hat uns anfänglich erstaunt, da ja Alkalien Jod binden. Wir konstatierten dann, daß in ganz schwach

alkalischen Lösungen tatsächlich die Jodstärkefärbung existieren kann: erst bei stärkerem Zusatz von Lauge verschwindet sie. Das zeigt uns, daß sich hier offenbar Hypojodit bildet, welches wie freies Jod reagiert und erst bei stärkerem Alkalitätsgrad in Jodat und Jodid übergeht.

2. *Versuch mit Bacterium coli.* Man führte nun die analoge Versuchsreihe mit Bacterium coli durch. Agarplatten-Oberflächenkulturen wurden mit einem sterilen Glasspatel abgeerntet, mit physiologischer Kochsalzlösung zu sehr dichter Aufschwemmung verrieben und davon je 1 ccm zu 9 ccm der stärke- und jodidhaltigen Kochsalzlösung bzw. ½ ccm zu 10 ccm anaerober Lösung zugesetzt. Die Proben standen die ersten 24 Stunden im Dunkeln, dann im diffusen Tageslicht. Die H-Ionenkonzentration betrug bei Beginn des Versuchs:

p_H vor dem Auskochen	2,7	4,9	7,0	8,0
p_H nach ,, ,, ...	2,7	6,0	7,2	8,0

Die Proben wurden 10 Tage lang beobachtet. In keinem Falle war Blaufärbung eingetreten. Die H-Ionenkonzentration wurde wieder bestimmt. Sie betrug nun:

p_H aerob	4,5	6,6	7,2	7,3
p_H anaerob	3,2	6,2	6,8	7,25

Da die Möglichkeit vorlag, daß die Stärke durch die Bakterien abgebaut und eine Blaufärbung aus diesem Grunde ausgeblieben war, setzte man überall neue Stärkelösung zu, ohne daß dabei irgendwo eine Färbung beobachtet worden wäre. Eine Gegenkontrolle mit Nitrit und Schwefelsäure gab starke Blaufärbungen.

Das Ausbleiben der Färbung muß so gedeutet werden, daß das frei gewordene Jod durch die Bakterien aufgenommen worden ist.

Da die Bakterienmenge sehr klein war, schien keine Aussicht zu bestehen, in den Sedimenten der einzelnen Röhrchen Jod nachweisen zu können. Man zentrifugierte deshalb alle Röhrchen, vereinigte die Sedimente, wusch sie dreimal mit viel physiologischer Kochsalzlösung aus, trocknete sie und bestimmte das Jod. Auf 0,0653 g trockener Bakterienmasse fand man 0,38 γ Jod, d. i. pro Kilogramm Trockensubstanz 5800 γ.

Da dies den Durchschnitt aller Röhrchen betrifft, fällt auf die aeroben Röhrchen mit saurer Reaktion ohne Zweifel ein weit höherer Gehalt.

Unser Versuch zeigt uns also, daß durch die Kolibakterien kein Jod in Freiheit gesetzt, sondern daß im Gegenteil welches gespeichert worden ist.

3. *Versuche mit Fäzesaufschwemmungen.* Es wurden zwei weitere Versuchsreihen in gleicher Weise durch Animpfen mit Fäzesaufschwemmungen vorgenommen. In keinem Falle erfolgte Blaufärbung. Wir müssen also auch hier Jodspeicherung annehmen, obgleich wir das Jod wegen der geringen Materialmenge nicht bestimmt haben.

4. *Versuch mit Bacterium Güntheri.* Ein etwas anderes Resultat ergab eine Versuchsreihe mit Bacterium Güntheri, wieder unter Verwendung der Aufschwemmungen von anaeroben Oberflächenkulturen.

Etwa 1 Stunde nach der vollzogenen Mischung zeigte sich im aeroben Röhrchen mit p_H 2,7 eine ganz schwache Lilafärbung, die mit der Zeit

stärker wurde. Beim anaeroben Röhrchen mit p_H 2,7 trat nach 24 Stunden auch ein leichter Schimmer einer Reaktion auf; er verschwand aber später wieder. Nach 12 Tagen wurde der Versuch abgebrochen. Es war nur noch im aeroben Röhrchen mit p_H 2,7 eine Blaufärbung zu konstatieren. Die Wasserstoffionenkonzentration war

am Anfang p_H	2,7	6,0	7,1	8,1
am Schluß p_H aerob	2,7	6,3	7,0	7,1
p_H anaerob	2,7	6,3	7,0	7,8

Auch hier wurde, wie übrigens ebenfalls bei den Versuchen mit Fäzesaufschwemmungen, festgestellt, daß das Ausbleiben der Reaktion nirgends durch Abbau der zugesetzten Stärke vorgetäuscht worden war.

Bacterium Güntheri hatte somit ebenso wie Bacterium coli und die Stuhlaufschwemmung kein Jod in Freiheit gesetzt, sondern welches gebunden.

5. *Versuche mit Aspergillus niger.* Nun wurden Versuche mit dem Schimmelpilz Aspergillus niger unternommen. Man ging hier etwas anders vor. Kulturen auf Bierwürze ließ man 5 Tage lang wachsen, bis ein üppiges Hyphengeflecht und gute Sporenentwicklung erreicht war. Die Häute wurden mit geglühtem Quarzsand und Wasser verrieben, davon je 20 g mit 0,1 g KJ in 200-ccm-Erlenmeyerkolben gebracht und die eine Probe in saurem, die andere in neutralem Zustand auf Jodabspaltung geprüft. Eine genaue Einstellung der Wasserstoffionenkonzentration war hier wegen der Färbung nicht möglich. Aus demselben Grunde wurde die Prüfung nicht mit Stärkelösung in der Flüssigkeit selber, sondern durch Einhängen von Stärkepapierstreifen vorgenommen.

Nach 12 Tagen war noch nicht die geringste Reaktion sichtbar.

Bei einem analogen Versuch mit Filtration des verriebenen Pilzmycels und Einstellung auf die üblichen p_H-Werte wurde ebenfalls in 12 Tagen keine Jodabspaltung beobachtet. Somit spaltet auch Aspergillus niger kein Jod aus Jodid ab.

6. *Vergleichende Versuche mit Aspergillus und mit Eiereiweiß.* Bei einer weiteren Versuchsreihe wollten wir erstens die Jodbindung durch Aspergillus niger prüfen, zweitens wollten wir untersuchen, ob die erwartete Reaktion speziell durch Mikroorganismen erfolgte, ob also ein spezielles Selektionsvermögen der Mikroorganismen für Jod sich nachweisen ließe oder ob überhaupt beliebiges vorhandenes Eiweiß, z. B. Hühnereiklar, unter den obwaltenden Umständen sich gleich verhalte.

Drei Parallelversuche mit je 250 ccm Bierwürze in 1-Liter-Erlenmeyerkolben, welche nachher mit Aspergillus niger angeimpft werden sollten, wurden mit folgenden Zusätzen versehen:

1. Ohne Zusatz,
2. + 2,5 mg KJ,
3. + 2,5 mg KJ und steriler Schlämmkreide.

Die anfängliche Wasserstoffionenkonzentration betrug p_H 5,8. Der Durchmesser der Flüssigkeitsoberfläche war 12 cm, wodurch gut aerobe Verhältnisse gegeben waren.

Um die Jodbindung durch Eiweiß zu prüfen, wurden die beiden folgenden Versuche angesetzt:

4. 500 ccm physiologischer Kochsalzlösung + 5 mg KJ + 4 g frisches Eiereiweiß werden im Wasserbade vorerhitzt, dann 10 Minuten lang auf 120° erhitzt und nach dem Abkühlen mit 0,1 g Milchsäure versetzt. p_H = 5,45, nach 2 Stunden 5,8.

5. 500 ccm physiologischer Kochsalzlösung + 5 mg KJ + 4 g frisches Eiereiweiß werden ebenso erhitzt. Ein Zusatz von Säure unterbleibt. p_H = 6,55.

Sämtliche Kolben wurden 15 Minuten bei 120° sterilisiert, dann die drei ersterwähnten mit Sporenaufschwemmung von Aspergillus niger geimpft und bei 30° aufgestellt.

Nach 4 Tagen hatten sich die Würzekulturen zu üppigen, derbhäutigen Rasen mit braunschwarzen Konidien entwickelt. Die Wasserstoffionenkonzentration war nun:

	1	2	3	4	5
p_H	2,9	2,8	3,5	5,7	6,55

Die Kreideaufschwemmung erscheint unerwartet sauer. Sie brauste aber bei weiterem Zusatz von Kreide nicht auf; somit konnte die Säure nur Kohlensäure sein.

Die Verarbeitung der Proben geschah auf folgende Weise. Die als zähe Haut aufschwemmenden Pilzrasen wurden aus den Kolben herausgenommen und sechsmal mit viel Brunnenwasser gewaschen, indem man sie jedesmal einige Minuten im Wasser liegen ließ. Dann wurde die Masse mit Filtrierpapier abgetrocknet und gewogen. In einem kleinen Teil davon wurde die Trockensubstanz bestimmt; die Hauptmenge wurde für die Jodbestimmung verwendet.

Die Eiweißaufschwemmungen wurden so gut wie möglich filtriert, auf dem Filter gründlich ausgewaschen, auch mit Filtrierpapier vom anhängenden Wasser befreit, gewogen, getrocknet und analysiert. Hier ist natürlich der Wassergehalt ein etwas zufälliger.

Man erhielt folgende Resultate:

Tabelle II.

Jodbindung durch Aspergillus niger und durch Eiereiweiß bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen.

	p_H	γ Jod im kg frischer Substanz	γ Jod im kg Trockensubstanz
1. Aspergillus niger	5,8—2,9	11	45
2. „ „ + KJ	5,8—2,8	625	2800
3. „ „ + KJ + Schlämmkreide	5,8—3,5	40	180
4. Eiereiweiß + KJ + Milchsäure .	5,7	500	6550
5. Eiereiweiß + KJ	6,55	0	0

Die Zahlen zeigen uns in schöner Übereinstimmung mit den an Bakterien gefundenen Ergebnissen, daß die Mikroorganismen in saurem Medium bedeutende Mengen Jod aufnehmen können. Die mit Schlämmkreide versetzte Probe 3 enthält nur wenig mehr Jod als die Kontrolle ohne Jodzusatz (1). Ob auch hier die bereits etwas saure (kohlensaure)

Reaktion zur Bindung einer Spur Jod geführt hat oder ob es sich um adsorbiertes, nicht genügend ausgewaschenes Jodid handelt, lassen wir dahingestellt.

Die Versuche 4 und 5 lassen erkennen, daß die Jodaufnahme keine besondere Eigenschaft der Mikroorganismen ist. Es ist kein aktiver Vorgang, sondern ein passiver. Die Organismen nehmen das Jod nicht eigentlich auf, sondern das durch die saure Reaktion und den Luftsauerstoff in Freiheit gesetzte Jod verbindet sich infolge der enormen Reaktionsfähigkeit, die ihm als Halogen zukommt, mit dem Eiweiß der Mikroorganismen, und zwar in gleicher Weise, wie es sich mit irgend einem beliebigen toten Eiweiß verbindet oder mit anderen anwesenden geeigneten Stoffen.

Dieser Vorgang wirft ein klares Bild auf die Jodanreicherung bei Erde. Auch hier muß das Jod, welches sich in elementarer Form in der Luft vorfindet und durch den Regen in die Erde gelangt, teilweise durch die organische Substanz der Erde gebunden werden. Das schließt nicht aus, daß die Adsorption von Jodid, über die wir weiter oben gesprochen haben, auch zu Recht besteht. Die Adsorption der Jodionen ist aber in vielen Fällen nur die erste Stufe einer festeren Einverleibung des Jods. Es folgt die Entionisierung unter Mitwirkung der anorganischen Katalysatoren der Erde und die Bindung des freien Jods an organische Substanz. Weiter dürfen wir wohl annehmen, daß die organischen Jodverbindungen unter geeigneten äußeren Bedingungen durch Mikroorganismentätigkeit wieder mineralisiert werden. Es wird der Prozeß also in beiden Richtungen vor sich gehen und die Pflanze hat daher Gelegenheit, einen Teil des anorganischen Jods auch ihrerseits aufzunehmen.

Zusammenfassung.

Aus neutraler, verdünnter Alkalijodidlösung ließ sich in der Zeit von 13 Tagen keine Jodabspaltung durch den Luftsauerstoff beobachten. Eine solche erfolgte aber in ganz geringem Maße in alkalischem, stärker in saurem Medium. In Gegenwart von Bakterien oder Schimmelpilzen ist die Jodentwicklung schwächer oder bleibt ganz aus, da das frei gewordene Jod durch die Mikroorganismen gebunden wird. Die Mikroorganismen sind dabei nicht aktiv, sondern rein passiv beteiligt. Das zeigen Versuche mit Hühnereiweiß, die genau gleich ausfielen.

In neutraler Jodidlösung konnte durch Aspergillus niger keine deutliche Jodspeicherung wahrgenommen werden.

Bemerkung über das Kohlemodell.

Von

Otto Warburg (Berlin-Dahlem).

(Eingegangen am 4. September 1924.)

In Liebigs Annalen berichten *Wieland* und *Bergel*[1]) über den Abbau von Aminosäuren an Kohle. Sie finden, daß Glykokoll, Alanin und andere Aminosäuren an der Oberfläche der Kohle oxydiert werden, daß die Oxydation unvollständig ist, und daß Kohlensäure, Ammoniak und Aldehyd bei der Oxydation erscheinen. Dies ist in allen Punkten dasselbe, was wir für andere Aminosäuren gefunden haben.

Nach Meinung der Autoren weichen ihre Befunde insofern von den unseren ab, als die Oxydation unvollständig sei. „Von einer vollständigen Verbrennung des Moleküls, wie sie *Warburg* und *Negelein* festgestellt zu haben glauben, kann bei unseren Versuchen nicht die Rede sein."

Der Teil des Satzes, der sich auf uns bezieht, von *Wieland* und *Bergel* in die Form eines Zitats gekleidet, enthält das Gegenteil dessen, was in unseren Arbeiten wirklich steht.

In unseren Arbeiten steht:

(Cystinversuche)[2]). „Die Oxydation ist also unvollständig, um so unvollständiger, je niedriger der Sauerstoffdruck." „. . . kann kein Zweifel bestehen, daß die Oxydation des Cystins unvollständig ist." „Auch stehen die Reaktionsprodukte unter sich in einem Verhältnis, das die Möglichkeit ausschließt, ein Teil des Cystins verbrenne vollständig."

(Leucinversuche)[2]). „Ebenso wie die Oxydation des Cystins ist die Oxydation des Leucins an Kohle unvollständig."

(Allgemein)[3]). „Die Oxydation der Aminosäuren an Kohle ist unvollständig. Cystin liefert Kohlensäure, Ammoniak und Schwefelsäure, jedoch nur 20 Proz. Kohlensäure, 30 Proz. Ammoniak und

---

[1]) *H. Wieland* und *F. Bergel*, Ann. d. Chem. **439**, 196, 1924.

[2]) *O. Warburg* und *E. Negelein*, diese Zeitschr. **113**, 257, 1921.

[3]) *O. Warburg* und *W. Brefeld*, ebendaselbst **145**, 461, 1924.

10 Proz. Schwefelsäure der bei totaler Verbrennung entstehenden Mengen und nimmt nur 30 Proz. des für totale Verbrennung berechneten Sauerstoffs auf. Leucin verbraucht 17 Proz. des für totale Verbrennung berechneten Sauerstoffs und liefert 17 Proz. Kohlensäure und 74 Proz. Ammoniak." „Bei der Oxydation des Leucins an Blutkohle entsteht ... Valeraldehyd ...."

Wir haben also in unseren Arbeiten nicht nur gezeigt, *daß* die Oxydation der Aminosäuren an Kohle unvollständig ist, sondern auch, in welchem Maße sie es ist. Wie sollten wir da „glauben", die Oxydation sei vollständig?

Untersuchungen über die Biochemie der Krebsbildung.

Von

Robert Bierich und Axel Rosenbohm.

(Aus dem Krebsinstitut in Hamburg-Eppendorf.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

I.

Die Untersuchung der Vorgänge im lebenden Organismus, die zur Krebsbildung führen[1]), ging von den mikroskopischen Veränderungen beim experimentellen Teerkrebs aus, die am Epithel und dem angrenzenden Bindegewebe nachweisbar sind. Diesen *Veränderungen* — der starken Zellvermehrung im Epithel und der progressiven Zerstörung des Bindegewebes — liegen *biologische Vorgänge* zugrunde, die im wesentlichen entgegengesetzt gerichtet sind und im Epithel durch eine Steigerung seiner Zellfunktionen, im Bindegewebe durch eine progressive Abnahme seiner biologischen Funktionen zustande kommen. Die Bedingungen des zweiten Vorganges, von dessen Zustandekommen die Eigenschaft bösartiger Geschwülste abhängt, in andere Gewebssysteme zerstörend einzuwuchern, sind in dieser Arbeit untersucht, die Bedingungen des ersten Vorganges werden in einer folgenden Arbeit mitgeteilt werden.

II.

Behandelt man weiße Mäuse gleicher Abstammung mit verschiedenen Teersorten (Hamburger-, Amsterdamer Vertikal- oder Horizontalretortenteer), so kommt die Krebsbildung bei ihnen in verschieden schnellem Tempo zustande. Die Zellvermehrung im Epithel läßt in der Zeiteinheit mit den verschiedenen Teersorten keine wesentlichen Differenzen erkennen, die Zerstörung des Bindegewebes dagegen verläuft mit dem schneller zur Krebsbildung führenden Teer deutlich

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1923, Nr. 36; Klin. Wochenschr. 1924, Nr. 6.

schneller. Hieraus war anzunehmen, daß in den verschieden schnell wirksamen Teersorten Substanzen vorhanden sind, die die Reaktionsgeschwindigkeit der Vorgänge im Bindegewebe spezifisch beeinflussen.

Die anfänglichen, mit Herrn Dr. *v. Hahn* ausgeführten Untersuchungen hatten zu der Vorstellung geführt, daß die Veränderungen, die bei der Krebsbildung im Bindegewebe und speziell in seiner obersten, kollagenen Schicht allmählich zustande kommen, durch vom Epithel her eindiffundierende Milchsäure bedingt sind[1]). Der progressive Abbau der Bindegewebsstruktur, der bis zum Einwuchern der Krebszellen hier erfolgt, ließ sich in Stücken normaler Haut sowohl mit reinen Säuren und Basen, wie mit ihren Salzen und in verschiedenen Salzgemischen erzeugen, ergab aber eine Übereinstimmung mit den Veränderungen im Krebsgewebe — wenn man das Hydrolyse- und das Diffusionsvermögen der untersuchten Substanzen in äquimolaren Lösungen, in der gegebenen Zeit und bei derselben Temperatur berücksichtigte — nur für die Milchsäure. Auf Grund dieser Ergebnisse wurde die Wirkung ansteigender Milchsäurekonzentrationen an exzidierten Stücken normaler Haut untersucht und ergab erstens dieselbe allmählich fortschreitende Zustandsänderung der kollagenen Fasern wie im Krebsgewebe, zweitens trat — parallel mit dieser und übereinstimmend mit den Vorgängen im Krebsgewebe — eine starke Vermehrung der „elastischen" Fasern auf.

Diese Faserstrukturen, deren Auftreten danach mit dem Abbau der kollagenen Fasern eng zusammenhängt, verhalten sich nach äußerer Strukturform und Anfärbbarkeit (durch Resorcinfuchsin) vollkommen wie die „elastischen" Fasern des Krebsgewebes. Die Beobachtung, daß die Reaktionen im Bindegewebe, die — nach der eben entwickelten Vorstellung — im wesentlichen durch Milchsäure zustande kommen, in ihrem Ablauf von unbekannten Elementen verschiedener Teerarten beschleunigt werden können, führte zunächst zu der Frage, wodurch die Wirkung der Milchsäure bedingt ist, und ob sich neben dieser Wirkung direkte Einflüsse im Teer enthaltener Substanzen nachweisen lassen.

III.

Das kollagene Gewebe der normalen Haut (weißer Mäuse) besteht aus einem eng verschlungenen Geflecht drehrunder Fasern, in das spärliche Bindegewebszellen, wechselnd zahlreiche Mastzellen und spärliche, zwischen den kollagenen verlaufende „elastische" Fasern eingelagert sind. Auf die schmale kollagene Schicht folgt eine ebenfalls schmale Fettgewebs- und eine aus wenigen quergestreiften Muskelfasern bestehende Muskelschicht.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1923, Nr. 36.

Bringt man Stücke normaler Rückenhaut der weißen Maus in m/10 Milchsäurelösung, die mit äquimolarem K-Lactat gepuffert ist, so läßt sich — durch Verschiebung beider Komponenten gegeneinander — eine Abstufung der H-Ionenkonzentrationen zwischen p_H 2,6 bis 4,8 — und der weitere Übergang nach der alkalischen Seite — durch Pufferung von m/10 K-Lactat mit m/10 KOH herstellen (p_H 4,8 bis $>$ 8,4). Die Untersuchung des Einflusses solcher ansteigend saurer oder alkalischer Lösungen ergab, daß in schwach sauren Lösungen (p_H 4,8 bis 3,9) die kollagenen Fasern, das Fettgewebe und die Muskelschicht quellen und gleichzeitig abgebaut werden. Speziell die kollagenen Fasern nehmen mit ansteigender H-Ionenkonzentration in ihrem Querdurchmesser zu und werden bei höherer H-Ionenkonzentration in eine homogene Masse verwandelt. Dieser Übergang der bei reiner Quellung scharf konturierten, stark lichtbrechenden kollagenen Fasern in eine homogene Masse läßt sich an der zunehmenden Verwaschenheit ihrer Konturen, dem Schwinden ihres Lichtbrechungsvermögens und dadurch verfolgen, daß zwischen ihnen anfangs breite, mit ansteigender Quellung der kollagenen Fasern immer schmäler werdende Strukturen auftreten, deren Anfärbbarkeit durch Resorcinfuchsin mit abnehmendem Kaliber deutlich zunimmt. Denselben tiefblauvioletten Farbton wie die neu entstandenen Faserstrukturen nehmen die Mastzellengranula an.

Auf der alkalischen Seite tritt in niedrigen Konzentrationen (bis p_H etwa = 7,5) keine nachweisbare Quellung der kollagenen Fasern und keine nachweisbare Vermehrung der mit Resorcinfuchsin anfärbbaren Strukturen ein, und die Granula der Mastzellen sind in diesem Bereich nur in wenigen in Auflösung begriffenen Zellen als blaugraue Körnchen nachweisbar. Mit ansteigender OH-Konzentration (p_H 7,5 bis etwa 8,4) nimmt der Querdurchmesser der kollagenen Fasern zuerst ab und mit weiter zunehmender OH-Konzentration wird das Gewebe zu einem rundmaschigen Netzwerk homogenisiert, das an einzelnen Stellen von feinen Resorcinfasern durchsetzt ist.

Lösungen mit einer p_H zwischen 3,9 bis 4,8 wirken danach auf kollagene Substanz im wesentlichen quellend, das Quellungsoptimum liegt also deutlich auf der sauren Seite, und bei Überschreiten dieser Grenze nach der sauren Seite geht die Quellung in Lösung über.

Die Quellwirkung der untersuchten Lösungen ist danach auf eine bestimmte H-Ionenkonzentration beschränkt, und dieser Einfluß der H-Ionen kommt, wie aus dem Verhalten der kollagenen Fasern im polarisierten Lichte hervorgeht, dadurch zustande, daß ihre Micellarstruktur dabei zunehmend hydratisiert wird. Durch den anisodiametrischen Bau der achsenparallel angeordneten Micellen kommt die ungleichmäßige Quellung der kollagenen Faser zustande.

Tabelle I.

m/10 Ac. lact. + m/10 Kal. lact. m/10 Kal. lact. + m/10 NaOH.

Nr.	Lösung m/10	p_H	Kollagene Fasern	Resorcinfasern	Mastzellen
139	Kontrolle	5,9	⊖ 2,45—4,9. Anfärbung: graulila Anordnung: verschlungen	spärlich ⊖ 0,2 μ. Anfärb.: dunkelblau Anordnung: verschlungen	2 pro Quadrat des Netzokulars
140	Ac. lact. 12,0 Kal. lact. 0,0	etwa 2,6	Anordnung: homogenisiert, stark gequollen	⊖ 0,2 μ. Anfärb.: dunkelblau Anordnung: unregelmäßig dicht	0
142	Ac. lact. 10,0 Kal. lact. 2,0	2,8	Anordnung: homogenisiert, stark gequollen	⊖ 0,2 μ. Anfärb.: dunkelblau Anordnung: unregelmäßig dicht	0
143	Ac. lact. 8,0 Kal. lact. 4,0	3,1—3,2	Anordnung: homogenisiert, stark gequollen	⊖ 0,2 μ. Anfärb.: dunkelblau Anordnung: unregelmäßig dicht	0
144	Ac. lact. 6,0 Kal. lact. 6,0	3,3—3,4	Anordnung: homogenisiert, stark gequollen	⊖ etwa 0,3 μ, dunkelblau, unregelmäßig	sehr spärlich, graublaue Granula, verklumpt
145	Ac. lact. 4,0 Kal. lact. 8,0	3,5—3,6	obere Schicht: aufgelöst, unt. Schicht: homogenisiert, graublau	⊖ etwa 0,3 μ, dunkelblau, vollkommen unregelmäßig	sehr spärlich, violette Granula
146	Ac. lact. 2,0 Kal. lact. 10,0	3,9	obere Partie ⊖ 2,45—4,9 μ, graublau, langgestreckt, untere Partie: verschlungen	⊖ 0,3 μ, dunkelblau, langgestreckt	spärlich, blaurote Granula
147	Ac. lact. 0,0 Kal. lact. 12,0	4,8	⊖ 2,45—4,9 μ, unvollkommene Streckung, graublau	⊖ etwa 0,5 μ, dunkelblau, im wesentlich.gestreckt	spärlich, Granula graublau
148	NaOH 2,0 Kal. lact. 10,0	7,5	⊖2,45—4,9 μ, graublau ob. Schicht: unvollkommene Streckung tiefe Schicht: eng verschlungen	sehr spärlich, ⊖ etwa 0,3 μ, dunkelblau, meist gestreckt	Zellen zerfallen, Granula graublau
149	NaOH 4,0 Kal. lact. 8,0	8,4	⊖2,45 μ, blaugraublau ob. Schicht: unvollkommene Streckung, z. T. koaguliert	keine Vermehrung, dunkelblau, z. T. unregelmäßig geradlinig	0
150	NaOH 6,0 Kal. lact. 6,0	> 8,4	⊖ 2,45—4,9 μ, blauviolett ob. Schicht: gewellt tiefe Schicht: verschlungen	keine Vermehrung, dunkelblau, unregelmäßig	0
151	NaOH 8,0 Kal. lact. 4,0	> 8,4	⊖ 2,45 μ, rotblau, obere Schicht: angedeutete Ausrichtung, z. T. aufgelöst tiefe Schicht: aufgelockert, verschlung.	keine Vermehrung, fein, dunkelblau, unregelmäßig	0
152	NaOH 10,0 Kal. lact. 2,0	> 8,4	⊖ 1,0—2,0 μ, z. T. verklumpt, rotviolett tiefe Schicht: verschlungen Fasern 2,5—7,0 μ	⊖ 0,3 μ, reichlicher	0
153	NaOH 12,0 Kal. lact. 0,0	> 8,4	ob. Schicht: koaguliert bzw. aufgelöst tiefe Schicht: 2,45—5,0 μ, graublau	⊖ etwa 0,3 μ, sehr zahlreich, unregelmäßig	0

Ersetzt man das Alkalilactat durch Lactate mit mehrwertigen Kationen (Ca″, Ba″, Zn″), so ergibt sich, daß mit ansteigender Wertig-

Tabelle II.

m/10 Ac. lact. + m/10 Zn. lact. m/10 Zn. lact. + m/10 NaOH.

Nr.	Lösung m/10	p_H	Kollagene Fasern	Resorcinfasern	Mastzellen
223	Formol Kontrolle	vorher u. nachher 5,9	max. 2,45 μ, verschlungen, ungefärbt	sehr spärl., graublau, unregelmäßig	violett, grobe Granula, 1 pro Quadrat des Netzwerkes
224	Ac. lact. 12,0 Zn. lact. 0,0	v.} n.} 2,7	aufgelöst, rot	oben: dichtere langgestreckte, tiefer: weniger dichte, unregelmäßig, graublaue	rot, verklumpt
225	Ac. lact. 10,0 Zn. lact. 2,0	v.} n.} 3,3	aufgelöst	⊖ 0,2 μ, tiefblau, obere Schicht: gestreckt, tiefe Schicht: unregelmäßige Netze	rotblau
226	Ac. lact. 8,0 Zn. lact. 4,0	v. 3,6 n. 3,7	aufgelöst	⊖ 0,2—0,3 μ, unregelmäßige Netze, graublau	rötlichblau, verklumpt
227	Ac. lact. 6,0 Zn. lact. 6,0	v. 4,1 n. 3,9	geflockt und zum größten Teil aufgelöst, rot	⊖ 0,2—0,3 μ, unregelmäßige Netze, graublau	rötlichblau, verklumpt
228	Ac. lact. 4,0 Zn. lact. 8,0	v. 4,3 n. 4,3	geflockt und zum größten Teil aufgelöst, rot	⊖ 0,2 μ, unregelmäßige Netze, graublau	graublaue Granula
229	Ac. lact. 2,0 Zn. lact. 10,0	v. 4,5 n. 4,7	geflockt, weniger aufgelöst, rot	⊖ 0,2 μ, dichtere, graublaue Fasern, vollkommen unregelmäßiges Netzwerk	verklumpt, graublau
230	NaOH 0,0 Zn. lact. 12,0	v. 6,5 n. 6,7	⊖ 2,45 μ, ungefärbt, verschlungen	nicht vermehrt, ⊖ 0,2—0,3 μ, unregelmäßig	tiefdunkel-graublau, Granula sehr zahlreich
231	NaOH 2,0 Zn. lact. 10,0	v.} n.} 7,3	ob. Schicht: ⊖ – 2,45 μ, unscharf; tiefere Schicht: 4,9–7,2 μ, unscharf, blaugraublau	abgenommen	schwarzblau, Granula sehr zahlreich
232	NaOH 4,0 Zn. lact. 8,0	v. 7,5 n. 7,3	ob. Schicht: 2,45–4,9 μ, tief. Schicht: 4,9–7,2 μ unscharf, blau, graublau	abgenommen	Granula gröber, dunkelviolett, viel spärlicher
233	NaOH 6,0 Zn. lact. 6,0	v. 7,7 n. 7,5	obere Schicht: max. 2,45 μ tiefere Schicht: max. 2.45 μ unschärfer, blau, graublau	nahezu 0	sehr spärliche, gröbere, z. T. ausgelöste violette Granula
234	NaOH 8,0 Zn. lact. 4,0	v. 8,1 n. 7,9	ob. Schicht: max. 1 μ, tiefere Schicht: 1 μ, unangefärbt. dichtes Gewirr fein. Fasern	0	sehr spärliche graublaue Granula
235	NaOH 10,0 Zn. lact. 2,0	v. > 8,4 n. > 8,4	obere Schicht: aufgelöst, rot, tiefere Schicht: graublau	spärliche unregelmäßig. Netzstruktur, graublau	0

keit des Kations erstens die H′ äquimolarer Lösungen nach der alkalischen Seite verschoben wird

2,0 m/10 K-Lactat + 10,0 m/10 Ac.-Lact. hat eine p_H = 2,8
2,0 m/10 Ca- „ + 10,0 m/10 „ „ „ p_H = 3,0
2,0 m/10 Zn- „ + 10,0 m/10 „ „ „ p_H = 3,3
2,0 m/10 Ba- „ + 10,0 m/10 „ „ „ p_H = 3,5

und daß zweitens — mit zunehmender Wertigkeit des Kations — destabilisierende Wirkungen an den Kolloiden nachweisbar werden. Diese sind besonders deutlich bei den Schwermetallionen.

Die Verschiebung der H-Ionenkonzentration nach der alkalischen Seite durch zweiwertige Elektrolyte Ca″, Ba″, Zn″ — das Symptom

Tabelle III.

m/10 Acid. lact. + m/10 Ba. lact.

Nr.	Lösung m/10	p_H	Kollagene Fasern	Resorcinfasern	Mastzellen
209	Formol	5,9	⊖ 2,45—4,9 μ, ungefärbt, verschlungen	0	tief blauviolett, zahlreich, 1 pro Quadrat
210	Ac. lact. 12,0 Ba. lact. 0,0	v.} n.} 2,6	vollkommen gelöst		
211	Ac. lact. 10,0 Ba. lact. 2,0	v. 3,5 n. 3,5	durchweg grobgefl. (Zellen verklumpt) bläulich rot	— etwa 0,5 μ, graublau, meist in langen wenig gewellten Fasern	nicht erkennbar
212	Ac. lact. 8,0 Ba. lact. 4,0	v. 4,2 n. 4,5	sehr stark gequollen, z. T. ausgeflockt u. gelöst, Haarpapillen aufgelöst	⊖ 0,1—0,2 μ, zahlreich, fein, graublau, unregelmäßig	rote unscharfe Granula, 1/2 pro Quadrat
213	Ac. lact. 6,0 Ba. lact. 6,0	v. 6,0 n. 6,9	oben: geflockt oder gelöst, ⊖ fast 0 μ, tief: 2,45—4,9 μ, ungefärbt, verschlung.	⊖ 0,3 μ, spärlich, parallel und nahezu horizontal, blau-graublau	tief violett, 1 pro Quadrat
214	Ac. lact. 4,0 Ba. lact. 8,0	v.} n.} 8,4	< 2,45 μ, ungefärbt, nicht ausgerichtet, nahezu homogen	0	sehr spärlich, graublaue Granula in zerfallenen Mastzellen
215	Ac. lact. 2,0 Ba. lact. 10,0	v.} n.} 8,4	vollkommen gelöst	waren im Gefrierschnitt nicht zu schneiden	
216	Ac. lact. 0,0 Ba. lact. 12,0	v.} n.} 8,4	vollkommen gelöst		

Die p_H-Messungen wurden mit Farbindikatoren ausgeführt.

ihrer Konzentrationszurückdrängung durch diese Elektrolyte — zeigt sich in der Hydratationsabnahme; aus dieser Reihe fällt die Wirkung von Ba″ und Fe″, die nicht nur die p_H stärker zurückdrängen, sondern auch in schwächeren Konzentrationen ausgeprägt flocken.

Die Zustandsänderungen, die äquimolare Lösungen verschiedener Lactate bewirken, setzen sich danach aus ihrer H-Ionenkonzentration und der Wertigkeit des Kations zusammen.

IV.

Resorcinfasern und Mastzellen sind bei der Krebsbildung um so zahlreicher, und die Anfärbbarkeit der Resorcinfaserstrukturen wie der Granula ist um so intensiver, je hochgradiger der Abbau der kollagenen Fasern ist. Hieraus schließen wir, daß die Resorcinfaserstrukturen — und mit Wahrscheinlichkeit auch die Mastzellengranula — mit dem Abbau der kollagenen Fasern direkt zusammenhängen.

Daß die Resorcinfaserstrukturen im wesentlichen aus Hydrolyseprodukten der kollagenen Fasern bestehen und nicht — wie in der voraufgehenden Arbeit angenommen wurde — allein aus der Grundsubstanz geformt werden, geht aus folgendem hervor: Sie sind am stärksten vermehrt bei einer bestimmten relativ niedrigen H-Ionen-

konzentration und enthalten eine mit Resorcinfuchsin anfärbbare Substanz in um so höherer Konzentration, je weiter vorgeschritten der Abbau der kollagenen Fasern ist. Sie lassen sich nicht nachweisen in Lösungen mit einer p_H oberhalb 7,5, in der — nach dem formalen Verhalten der kollagenen Fasern — Abbauvorgänge auch nicht nachweisbar sind. Diese treten wieder in hohen OH-Konzentrationen auf, bei denen die kollagenen Fasern ausgeflockt bzw. homogenisiert werden.

V.

Bei dem Abbau der kollagenen Fasern wird ihr normal eng verschlungenes Geflecht allmählich in ein nahezu horizontales, jedenfalls annähernd parallel zur Hautoberfläche gestrecktes Maschenwerk umgewandelt. Dieser Ausrichtung der kollagenen Fasern folgen die zwischen ihnen abgeschiedenen Resorcinfaserstrukturen durchweg, *falls der Abbau der kollagenen Fasern allmählich erfolgt.*

Bei der Krebsbildung ist diese Erscheinung bis zum Einwuchern der Krebszellen ins Bindegewebe die Regel. (Man kann umgekehrt schließen, daß, wenn die Resorcinfasern diese regelmäßige Ausrichtung nicht zeigen, das Einwuchern des Epithels ins Bindegewebe bereits im Gange ist.)

Die kollagenen Fasern zeigen im polarisierten Licht Doppelbrechung und damit das Symptom des Aufbaues ihrer Substanz aus anisodiametrischen Micellen. Diese Doppelbrechung bleibt bei zunehmender Quellung um so länger erhalten, je weniger Abbauvorgänge in der Substanz bestehen. Sobald diese überwiegen, schwindet die Doppelbrechung, und die ursprünglich achsenparallel geordnete Micellarstruktur wird in eine ungeordnete Micellarmasse verwandelt.

Durch Untersuchung der Doppelbrechung der kollagenen Fasern der normalen Haut in Lösungen mit ansteigender H-Ionenkonzentration läßt sich verfolgen, wie diese zwei Prozesse — die Abscheidung der Hydrolyseprodukte und das Schwinden der Doppelbrechung — einander parallel gehen. Die abgebaute kollagene Faser verliert dabei mit abnehmender Doppelbrechung ihre Anfärbbarkeit durch Resorcinfuchsin, behält aber einen bestimmten Grad von Elastizität, denn sie wird jetzt von den im Gewebe herrschenden Spannungen zu nahezu horizontalen, untereinander parallel gerichteten breiten und unscharf konturierten Strängen gestreckt. Diese Vorgänge spielen sich in der obersten kollagenen Schicht ab, und die Ausrichtung trifft — wie gesagt — in gleicher Weise die Hydrolyseprodukte, die zwischen den Kollagenen als feinkalibrige, geradlinige, tiefblau gefärbte Faserstrukturen liegen. An diesen Strukturen tritt nun der umgekehrte Vorgang ein: sie werden doppelbrechend, falls ihre geradlinige Ausrichtung allmählich zustande kommt. Die Bedingungen hierfür liegen

zweifellos vorwiegend in den im Gewebe herrschenden physikalischen Kräften, von denen die Micellen gleichmäßig orientiert werden, und diese sind durch Substanzen bedingt, die beim Abbau der kollagenen Fasern frei gesetzt werden oder entstehen.

Dies kann, fürs erste nur indirekt, daraus geschlossen werden, daß die kollagenen Fasern in diesem Zustande ihre Anfärbbarkeit durch Resorcinfuchsin verloren haben. Die Substanzen, die in der voraufgehenden Abbauphase offenbar aus ihrer festen Bindung im Kolloid der kollagenen Faser frei gesetzt sind und die Anfärbbarkeit der Hydrolyseprodukte sowie der kollagenen Fasern bedingten, sind nunmehr definitiv ausgeschieden und geben die Farbreaktion nunmehr allein mit den Resorcinfasern und den Mastzellengranulis.

Der Vorgang ließ sich experimentell folgendermaßen nachweisen. Die Resorcinfasern, die in der exzidierten Haut experimentell erzeugt werden, sind, solange die äußere Struktur der kollagenen Fasern erhalten ist, ebenso wie diese zu eng verschlungenen Geflechten angeordnet und zeigen bei Untersuchung im polarisierten Lichte keine Doppelbrechung. Läßt man die Säurelösung auf Hautstücke einwirken, die unter orientierter Spannung stehen, z. B. dadurch, daß man die Säure nur von der Hautoberfläche her gegen negativen Druck eindiffundieren läßt, so werden die kollagenen Fasern und mit ihnen die aus den Hydrolyseprodukten geformten Resorcinfasern parallel ausgerichtet. Diese Strukturen zeigen Doppelbrechung, wenn die kollagenen Fasern in der sauren Lactatlösung durch Resorcinfuchsin nahezu unanfärbbar geworden, gleichmäßig gestreckt und geradlinig ausgerichtet waren.

Der Quellungsdruck der kollagenen Fasern und die Entziehung von Quellflüssigkeit reichen danach nicht aus, um den Substanzen der Hydrolyseprodukte Doppelbrechung und damit eine geordnete Micellarstruktur zu geben. Diese tritt aber auf, sobald beim Abbau der kollagenen Fasern bestimmte physikalisch-chemische Bedingungen im Gewebe eingetreten sind.

VI.

Die von *Haber* gegebene Auffassung, daß das Verhältnis von Häufungs- und Ordnungsgeschwindigkeit für die Strukturbildung im lebenden Organismus maßgebend ist, erklärt die physikalischen Bedingungen dieser Erscheinung aufs beste. Der Abbau der kollagenen Fasern erfolgt im lebenden Organismus sehr allmählich — die Zustandsänderung, die wir in der normalen Haut in 48 Stunden erzeugen, tritt bei der Teerkrebsbildung in etwa 90 Tagen ein —, und bei diesem langsamen Abbau der kollagenen Fasern werden die Teilchen der Hydrolyse-

produkte offenbar so „gleichmäßig" abgeschieden, daß ihre Ordnungsgeschwindigkeit ihre Häufungsgeschwindigkeit überwiegt.

Auf Grund der von *Haber* gegebenen Erklärung ließ sich eine parallele Ausrichtung der Hydrolyseprodukte schließlich auch ohne negativen Druck erreichen, wenn ausreichend große Hautstücke in allmählich ansteigenden Lactatkonzentrationen langsam abgebaut wurden. Die auf diesem Wege erzielten Faserstrukturen gaben aber bisher keine Doppelbrechung.

Nach Auflösung der kollagenen Fasern behalten die Resorcinfaserstrukturen ihren gestreckten Verlauf und ihre Anfärbbarkeit so lange bei, bis die Krebszellen in das zerstörte Gewebe einwuchern. Hierbei werden die Resorcinfasern zuerst in der Längsrichtung aufgeteilt, ziehen sich korkzieherartig oder zu dichten Knäueln zusammen und lassen sich in weiter vorgeschrittenen Stadien der Krebsbildung nicht mehr nachweisen. Die Mastzellen überdauern diesen Vorgang nur kurze Zeit. Nimmt man an, daß die Erscheinung an den Resorcinfasern durch Aufhebung einer bis dahin wirksamen Spannung im Gewebe erfolgt, so ergibt sich aus dem Zusammenrollen der Teilstücke, daß die Hydrolyseprodukte zu dieser Zeit und bei gegebener Zusammensetzung des Mediums noch einen bestimmten Grad von „Eigenelastizität" besitzen. Wodurch das an diesen Zustand anschließende Verschwinden der Resorcinfaserstrukturen bedingt ist, wird sich aus der weiteren Untersuchung ergeben.

VII.

Auf Grund der mitgeteilten Befunde lassen sich die biologischen Vorgänge beim Einwuchern der Krebszellen ins Bindegewebe auf bestimmte physikalisch-chemische Gesetzmäßigkeiten zurückführen.

Als Kontrolle der erhaltenen Vorstellungen vom Ablauf der Reaktionen im lebenden Organismus diente ihre experimentelle Reproduzierbarkeit an der normalen überlebenden Haut. Hierbei konnten nicht nur die Reaktionsbedingungen im Bindegewebe annähernd quantitativ festgestellt werden, sondern es wurden auch wichtige Aufschlüsse über das Schicksal der im Gewebe entstehenden Reaktionsprodukte erhalten[1]).

Danach verläuft der gesamte Vorgang bei der Krebsbildung kreislaufartig, indem die im Teer enthaltenen Substanzen, die den primären kapillarchemischen Grenzflächenvorgang im Epithel der normalen Haut auslösen, auch an den Vorgängen im angrenzenden Bindegewebe beteiligt sind.

---

[1]) Über diese Untersuchung wird in einer folgenden Arbeit berichtet werden.

Bei dem gesteigerten Abbau der Kohlehydratreserven durch die Krebszellen tritt Milchsäure auf, die vom Epithel her in das Bindegewebe eindiffundiert und hier gepuffert wird. Durch diese Milchsäure wird das Protein der kollagenen Fasern entionisiert und weiter nach Abspaltung von Aminosäuren und anderen Bausteinen in eine gelatineartige Substanz verwandelt. Diese Zustandsänderung des Bindegewebes ist die Vorbedingung für das Einwuchern der Krebszellen.

Bestandteile der Abbauprodukte des Bindegewebes spielen nun — wie erwähnt — ihrerseits eine wichtige Rolle beim Zustandekommen und weiteren Verlauf der Vorgänge im Epithel.

Auf diese Weise ergibt sich der kreislaufartige Zusammenhang zwischen den Vorgängen im Epithel und denen im Bindegewebe.

Einige Beobachtungen über Hefenfermente.

Von

C. Neuberg.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

I. Die Vorführung der Carboxylasewirkung im Vorlesungsversuch.

Vor Jahren haben *C. Neuberg* und *L. Karczag*[1]) eine Anleitung gegeben, um den Vorgang der zuckerfreien Gärung, insbesondere die Vergärung der Brenztraubensäure, bequem als Demonstrationsversuch mit frischer Hefe zeigen zu können. Da es nun gelegentlich vorkommt, daß frische abgepreßte Hefe trotz guten Aussehens gegen freie Brenztraubensäure empfindlich ist, kann man für Vorlesungszwecke *Trockenhefe* oder *Acetonhefe* vorrätig halten, deren carboxylatische Kraft erprobt ist. Mit diesen Materialien operiert man folgendermaßen:

Man mischt in einem Reagenzglase 15,0 ccm m/10 Brenztraubensäure[2]) mit 1,5 ccm m-Dikaliumphosphatlösung[3]) oder mit 1,5 ccm 2 m-Kaliumacetatlösung[4]). Alsdann trägt man in kleinen Anteilen 2 g Trockenhefe oder Acetonhefe ein; der Zusatz muß allmählich erfolgen, um ein Zusammenklumpen zu verhindern. Das gut durchgeschüttelte Gemenge führt man darauf in ein *Schrötter*sches Gärungsröhrchen ein, dessen längerer Schenkel etwa 10 ccm faßt. Über den kurzen offenen Schenkel zieht man mittels einer Schlauchverbindung ein aufwärts ragendes Glasrohr und versenkt den kleinen Apparat in ein Becherglas mit Wasser von etwa 37°. Das am offenen Schenkel angebrachte Glasrohr muß natürlich über die Wasserfläche reichen. Die Gärung ist gewöhnlich nach einer Minute bereits im Gange. Zumeist läßt sich der Versuch auch bei Zimmertemperatur innerhalb einer halben Stunde ausführen. Die Pufferung mit Kaliumacetat erweist sich noch günstiger als die Verwendung des sekundären Kaliumphosphats; mit Acetat ist die Kohlendioxydentwicklung nahezu stürmisch,

---

[1]) *C. Neuberg* und *L. Karczag*, Ber. **44**, 2477, 1911.

[2]) Sie enthält 0,88 g = 0,7 ccm frisch rektifizierter Brenztraubensäure in 100 ccm H_2O.

[3]) Sie enthält 17,4 g K_2HPO_4 in 100 ccm.

[4]) Sie enthält 19,6 g $CH_3.COOK$ in 100 ccm.

das Röhrchen gärt in wenigen Minuten aus und der Geruch nach Acetaldehyd ist unverkennbar.

Man kann auch aus der Trockenhefe in üblicher Weise *Mazerationssaft* bereiten und mit diesem arbeiten. Verwendet man 15,0 ccm Saft und gibt dazu ein Gemisch von 1,5 ccm m-Brenztraubensäure und 1,5 ccm 2 m-Kaliumacetat, so setzt Kohlendioxydentwicklung im Gärröhrchen bei 37° ebenfalls schnell und kräftig ein.

II. Selbstdifferenzierung von Carboxylase und Zymase.

Nicht allein durch chemische und physikalische Maßnahmen kann man Carboxylase und Zymase so beeinflussen, daß nur das Brenztraubensäure zerlegende Ferment wirksam bleibt; auch beim Aufbewahren von Trockenhefe schwindet, wie früher mitgeteilt worden ist[1]), das Vermögen zur Vergärung von Zucker weit schneller als die Spaltungskraft gegenüber Brenztraubensäure.

Am 7. März 1916 hatte ich Gelegenheit, bei der *Krause*-Trocknungsgesellschaft in München *Hefemazerationssaft* durch Zerstäubung bei einer Temperatur unter 30° zu trocknen, wobei man ein gelbliches, fast ganz klar in Wasser lösliches feines Pulver erhält.

Derart in Wasser gelöst, daß der Eiweißgehalt des ursprünglichen Saftes wieder erreicht wurde (1 Teil Pulver auf 6 bis 7 Teile Wasser), ist dieses Ferment-Trockenmaterial zunächst befähigt gewesen, sowohl Glucose und Rohrzucker als gepufferte Brenztraubensäure zu zerlegen. Nach 27 Tagen war jedoch die zuckervergärende Kraft bereits erheblich abgeschwächt und nach 49 Tagen vollkommen erloschen. Auch Zusatz von Koferment belebte dann die aus dem Trockenpräparat bereitete Zymaselösung nicht wieder.

Dagegen bestand noch eine erhebliche Vergärungskraft für geeignete Pyruvinatlösungen. Angeführt sei folgender Versuch:

3 g Pulver von getrocknetem Mazerationssaft aus Hefe der Brauerei Königstadt wurden in 18 ccm destillierten Wassers eingetragen. Beim Verrühren im Mörser ging alles bis auf eine opake Trübung in Lösung. Zu dieser Flüssigkeit wurde $\frac{1}{4}$ ccm Toluol sowie ein Gemisch[2]) von 1,5 ccm m-Brenztraubensäure und 1,5 ccm 2 m-Kaliumacetat gefügt. Nach dem Einbringen in ein Eudiometer wurden bei 32° innerhalb 48 Stunden 18,4 ccm Kohlendioxyd entwickelt.

Nach insgesamt 190 Tagen war das Gärvermögen des nach dem Krauseverfahren in ein Trockenpräparat übergeführten Hefensaftes gegenüber der gepufferten (wie freien) Brenztraubensäure ebenfalls versiegt.

---

[1]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **56**, 497, 1913.

[2]) Die Acidität desselben ist so gering, daß die von der verdünnten Brenztraubensäure allein rotem Laugepapier erteilte Bläuung nicht mehr eintritt.

Die Proteine des Trockenmaterials waren nicht unlöslich geworden; eine Denaturierung derselben in gewöhnlichem Sinne kann also kaum eine Rolle gespielt haben.

Jedenfalls konnte festgestellt werden, daß eine Selbstdifferenzierung zwischen den beiden Fermenten Zymase und Carboxylase erfolgt und die Carboxylase sich im Einklange mit unseren früheren Erfahrungen als das beständigerere Agens erweist.

III. Über die Wärmetönung der Brenztraubengärung.

C. Neuberg und *P. Rosenthal*[1]) fanden die Vergärung von Brenztraubensäure durch frische Hefe mit Wärmeentwicklung verbunden. Früher war die große Menge von 75 g Hefe auf 250 g 1 proz. Brenztraubensäurelösung angewendet worden. Inzwischen ist nun die Methodik so vervollkommnet, daß die Umsetzung der Brenztraubensäure auch mit zellfreien Hefesäften durchführbar ist, und dieser Umstand ermöglichte eine Wiederholung der ersten Versuche über diesen Gegenstand unter eindeutigeren Bedingungen.

Es war der Verdacht nicht von der Hand zu weisen, daß die positive Wärmetönung auf Kosten einer Selbstgärung zu setzen ist, der das in der frischen Hefe enthaltene Glykogen und eventuell andere Polysaccharide unterliegen, und daß die durch Verzuckerung entstandenen Kohlenhydrate in die Vergärung der Brenztraubensäure mit hineingezogen werden.

Richtig bereiteter Hefemazerationssaft weist, wie schon *Lebedew*[2]) angegeben hat und seitdem vielfach bestätigt werden konnte, keine Selbstgärung auf. Bei einer Vergärung von Brenztraubensäure mit solchem einwandfreien Saft konnte nun keine Wärmeentwicklung beobachtet werden. Die Versuche sind nach Art des folgenden Beispiels vorgenommen:

Zu 500 ccm Hefemazerationssaft wurde das Gemenge von 50,0 ccm m-Brenztraubensäure (= 4,4 g) plus 50,0 ccm 2 m-Kaliumacetat gegossen. Die Flüssigkeit, die mit 5 ccm Toluol steril gehalten wurde, zeigte 2 Minuten nach der Mischung eine Temperatur von 19,6°. Während der Aufbewahrung in dem als Kalorimeter dienenden Dewargefäß, in dessen engen Hals ein Gummistopfen mit kapillarem Gasentbindungsrohr eingesetzt war, stieg die Temperatur zu keiner Zeit an, sank vielmehr auf 19,3°. Kohlensäure wurde reichlich entwickelt.

Aus energetischen Gründen dürfte gleichfalls die Vergärung von Brenztraubensäure nicht zu den wärmeliefernden Prozessen gehören.

[1]) *C. Neuberg* und *P. Rosenthal*, diese Zeitschr. **61**, 175, 1914.
[2]) *A. v. Lebedew*, Ann. de l'Institut Pasteur **26**, 31, 1912.

IV. Über die spaltende Kraft einer jahrelang aufbewahrten Invertaselösung.

Am 3. Juni 1912 wurde durch Autolyse von Preßhefe unter Zugabe von Chloroform und Toluol eine Invertaselösung gewonnen[1]). Wie berichtet ist[1]), hat diese Invertaselösung einer 470tägigen Autolyse widerstanden. Auch nach 800 Tagen[2]) war die Invertase noch wirksam.

Genau nach 12 Jahren und 1 Monat, am 3. Juli 1924, wurde eine erneute Prüfung nach der in den früheren Mitteilungen angegebenen Weise vorgenommen.

10,0 ccm des Autolysats wurden mit 10,0 g Rohrzucker und 25,0 ccm Wasser versetzt. Das Gemisch blieb 21 Stunden im Brutschrank von 37° stehen und wurde dann mit Wasser sowie 5 ccm kolloidalem Eisenhydroxyd auf ein Volumen von 50,0 ccm gebracht. Das leicht gelbe Filtrat drehte nach links, und zwar war die Ablenkung im 1-dcm-Rohr entsprechend — 4,025 Proz. Glucose (im Mittel von vier Ablesungen). Fast genau der gleiche Wert ist früher gefunden worden. Die gekochte Fermentlösung war unwirksam. Durch Zusatz von Toluol war die Sterilität gewährleistet.

Die Invertaselösung hat also eine mehr als 4400tägige Aufbewahrung bei Zimmertemperatur ohne Änderung ihrer Spaltungskraft überdauert.

---

1) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **56**, 495, 1913.
2) *Derselbe*, ebendaselbst **71**, 103, 1915.

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertzweiundfünfzigster Band

Drittes und viertes Heft

Ausgegeben am 30. Oktober 1924



Berlin

Verlag von Julius Springer

1924

Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber,
Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,
zu richten.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Doch bittet der Verlag, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiexemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse dringend gebeten, sich, wenn irgend möglich, mit der kostenfrei zur Verfügung gestellten Anzahl zu begnügen, und falls mehr Exemplare unbedingt erforderlich sind, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen, um unliebsame Überraschungen zu vermeiden.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

152. Band. **Inhaltsverzeichnis.** Heft 3/4.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über Gentiobiase.

Von

P. Karrer und **M. Staub.**

(Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 5. September 1924.)

In einer zurzeit im Druck befindlichen Arbeit[1]) haben wir gezeigt, daß der dialysierte Schneckendarmsaft, der frei ist von Diastase, Maltase, β-Glucosidase, Lactase, Invertin und Inulase, noch die intakte Lichenase, das Reservecellulose spaltende Ferment enthält; ein Teilenzym der letzteren ist die Cellobiase, und neben ihr findet sich die Gentiobiase, die also bei der Dialyse der Enzymlösung auch beständig bleibt. Es wurde die Frage diskutiert, ob auch die Gentiobiase ein Teilenzym der Lichenase darstellt Da die Abklärung derselben für das Konstitutionsproblem der Cellulose Bedeutung hat, untersuchten wir in vorliegender Arbeit die Verbreitung der Gentiobiase im Pflanzenreich und richteten unser Augenmerk besonders auf den Umstand, ob sie immer neben der Cellobiase und Lichenase auftritt, und ob ihre Quantität in verschiedenen Pflanzen dem jeweiligen Gehalt derselben an Cellobiase bzw Lichenase ungefähr parallel geht. Ist dies der Fall, so liegt darin eine wesentliche Stütze der Anschauung, daß die Gentiobiase zum Enzymkomplex der Lichenase gehört.

Dem Gentiobiose spaltenden Enzym ist man im Pflanzen- und Tierreich schon mehrmals begegnet. *E. Bourquelot* und *H. Hérissey*[2]) fanden es im „Emulsin" und in der Aspergillusflüssigkeit, dagegen nicht in der Bierhefe. *H. Bierry*[3]) beobachtete, daß Gentianose von Fermenten wirbelloser Tiere (z. B. der Weinbergschnecke) bis zu den Monosacchariden abgebaut wird (zuerst soll Fructose abgespalten werden); da die Gentiobiose ein Baustein der Gentianose ist, sehen wir also auch hier die Gentiobiase an der Arbeit; *E. Bourquelot* und *M. Bridel*[4]) führten die Zerlegung der Gentianose in Glucose und Rohrzucker mit „Emulsin" aus. Seit man neuerdings weiß, daß der Zucker des Amygdalins Gentiobiose ist, darf man endlich auch das Vorkommen der Gentiobiase in

[1]) Erscheint in den Helv. Chim. Acta.
[2]) C. r. **135**, 399, 1902.
[3]) C. r. **148**, 949, 1909; diese Zeitschr. **44**, 426, 446.
[4]) C. r. **171**, 11, 1920.

Brauereihefe (Frohbergtypus) sicher annehmen, denn *E. Fischer*[1]) hat bekanntlich schon im Jahre 1895 das Amygdalin durch einen wässerigen Auszug von Bierhefe in Glucose und Mandelnitrilglucosid zerlegt und also damit — wie wir heute feststellen können — die erste Gentiobiosespaltung ausgeführt.

Nach unseren Erfahrungen gehört nun die Gentiobiase zu den verbreitetsten Fermenten und findet sich überall da, wo man die Lichenase und die Cellobiase antrifft[2]). Die Beziehung zu den letzten beiden Enzymen geht aber noch weiter, indem auch eine quantitative Beziehung zwischen ihnen und der Gentiobiase zu existieren scheint; Pflanzenextrakte, die viel Cellobiase enthalten, besitzen auch viel Gentiobiase; solche, in denen das eine Enzym in kleiner Menge vorkommt, führen auch wenig vom anderen. Ob die Quantitäten jeweilen genau parallel gehen, läßt sich erst entscheiden, wenn für die beiden Fermente Maßeinheiten ausgearbeitet sind, die aber eine genaue Kenntnis der Kinetik der Zuckerspaltungen voraussetzen. Die Bearbeitung dieser Frage haben wir begonnen.

Die folgende Tabelle vermittelt ein Bild der fermentativen Cellobiose- und Gentiobiosespaltungen, die mit Extrakten aus keimendem Spinatsamen, keimendem Hafer, keimender Gerste und mit dialysiertem Schneckenenzym durchgeführt wurden. Die ersten beiden Enyzmextrakte (Spinat, Hafer) enthielten sehr wenig Cellobiase und dementsprechend wenig Gentiobiase; der Schneckensaft hatte viel größeren Cellobiase- und Gentiobiasegehalt und der Malzextrakt wies am meisten von beiden Enzymen auf. Auch die Lichenasemenge ging in allen vier Extrakten durchaus proportional dem Gehalt an den anderen Enzymen.

Vor wenigen Jahren hat *Czapek* in seiner Biochemie der Pflanzen die Tatsache des Vorkommens von Cellobiase in Gerste und Malz mit den Worten begleitet: „Es ist unbekannt, ob diese Enzymwirkung selbständigen Fermenten zukommt und was ihr etwaiger Nutzen ist“[3]). Heute wissen wir, daß die Cellobiase als Teilenzym der Lichenase dem Abbau der Reservecellulose (Lichenin) dient. Und wieder könnte man heute die Frage erheben nach dem Nutzen der Gentiobiase in allen möglichen Samen und anderen Pflanzenteilen, in Invertebraten usw., da die Gentiobiose ein sehr seltener Zucker ist. Anders wird diese Sachlage, wenn wir sie als ein Teilenzym der Lichenase, des Reservecellulose abbauenden Enzyms betrachten und annehmen dürfen, daß

[1]) B. 28, 1508, 1895.

[2]) Auch in Mandelemulsin (*Bourquelot* und *Hérissey*, l. c.; *Bertrand* und *Holderer*, C. r. **149**, 1385, 1909; **150**, 230, 1910; *Bertrand* und *Compton*, C. r. **151**, 402, 1910) und in Aspergillus niger (*Bourquelot* und *Hérissey*, l. c.; *Bertrand* und *Holderer*, l. c.) sind Gentiobiase und Cellobiase gefunden worden.

[3]) *Czapek*, 2. Aufl., 1, 448.

Ansatz: je 10 ccm Gentiobioselösung mit 0,1428 g Substanz + 10 ccm Phosphatpuffer ($p_H = 5,28$) + 40 ccm Enzymlösung. Titrationen mit je 10 ccm.				Ansatz: je 10 ccm Cellobioselösung mit 0,1428 g Substanz + 10 ccm Phosphatpuffer ($p_H = 5,28$) + 40 ccm Enzymlösung. Titrationen mit je 10 ccm.			
Spaltung nach Stunden	Verbrauchte ccm $KMnO_4$	Reduziert mg Cu	Spaltung Proz.	Spaltung nach Stunden	Verbrauchte ccm $KMnO_4$	Reduziert mg Cu	Spaltung Proz.
	A. Spinatenzym [1].				*A. Spinatenzym* [1].		
0	4,15	26,4	0	0	5,15	32,7	0
24	4,61	29,3	10	24	5,6	35,6	13
48	5,29	33,6	20	48	6,0	38,3	27
	B. Haferenzym [2].				*B. Haferenzym* [2].		
0	4,15	23,4	0	0	5,15	32,7	0
24	4,7	29,88	13	24	5,6	35,6	13
48	5,5	34,9	34	48	6,04	38,4	27
	C. Malzenzym [3].				*C. Malzenzym* [3].		
0	4,1	26,4	0	0	5,15	32,7	0
2	4,89	31,2	19	2	6,15	41,3	44
4	6,12	38,9	50	4	7,23	45,96	74
7	6,65	42,27	65	7	7,65	48,6	95
24	6,96	44,2	74	24	7,75	49,27	100
	Schneckenenzym [4].				*Schneckenenzym* [4].		
0	4,15	26,4	0	0	5,15	32,7	0
2	4,47	28,4	8	2	5,55	35,3	13
4	4,6?	29,3?	10?	4	6,12	38,9	29
7	4,9	31,2	19	7	6,53	41,5	45
24	6,3	40,0	56	24	7,77	49,4	100

[1]) 40 ccm einer Lösung aus 100 g keimendem Spinat und 370 ccm Wasser bereitet.
[2]) 40 ,, ,, ,, ,, 100 g ,, Hafer ,, 300 ,, ,, ,,
[3]) 40 ,, ,, ,, ,, 2 kg Malz und 6 Liter Wasser bereitet.
[4]) 15 mg Trockenpräparat in 40 ccm H_2O.

sie am Abbau der Reservecellulose beteiligt ist. Diese Auffassung findet eine Stütze in der Arbeit von *P. Karrer* und *Al. P. Smirnoff*[1]), die es auf ganz anderem Wege seinerzeit wahrscheinlich machten, daß in der Cellulose 1,6-glucosidische Bindungen, also Maltose oder Gentiobiosebindungen vorkommen (s. Tabelle auf voriger Seite).

Die Genauigkeit, mit der die in jedem Zeitpunkt stattgefundene Spaltung der Cellobiose und Gentiobiose berechnet werden kann, ist nicht sehr groß. Schon kleine Titrationsfehler (z. B. 0,1 ccm n/10 $KMnO_4$) bewirken bei der Ausrechnung erhebliche Verschiebungen der Spaltwerte. *Daher können auch die oben ermittelten Prozentzahlen, welche das Maß für die fortschreitende Hydrolyse der Disaccharide sind, mit Fehlern bis zu etwa 3 oder 4 Proz. behaftet sein.*

Trotzdem ist das Bild eindeutig: in den untersuchten Enzymlösungen gehen Cellobiase- und Gentiobiasegehalt mindestens annähernd parallel.

Die Schneckengentiobiase wirkt am besten in schwach saurer Lösung. Das Optimum liegt etwa bei $p_H = 5,2$:

Je 20 ccm Gentiobioselösung mit 24,2 mg Substanz,
5 „ Phosphatpuffer,
2 „ Schneckenenzymlösung,
Toluol,
} 36°; Dauer der Fermentation 20 Stunden.

	$p_H = 3,94$	$p_H = 4,65$	$p_H = 5,28$	$p_H = 5,9$	$p_H = 7,16$
Reduzierte mg Cu . . .	14,0	15,26	16,34	14,62	12,70

Das Reduktionsvermögen der Gentiobiose für *Fehling*sche Lösung wurde in großer Annäherung an frühere Resultate anderer Autoren wie folgt bestimmt:

10 mg Gentiobiose reduzieren . . . . . 11,4 mg Cu
20 „ „ „ . . . . . 22,5 „ Cu
30 „ „ „ . . . . . 33,1 „ Cu
40 „ „ „ . . . . . 43,2 „ Cu

Die Schneckengentiobiase baut Gentiobiose quantitativ zu Glucose ab.

15 ccm Lösung mit 71,2 mg Gentiobiose,
5 „ Schneckenenzymlösung,
10 „ Phosphatpuffer ($p_H = 5,28$),
Toluol.
} Aufbewahrt bei 36°.

Titrationen mit je 5 ccm Lösung (ursprünglich 11,8 mg Gentiobiase enthaltend).

Reduktionsvermögen nach 48 Stunden 24,9 mg Cu.

Reduktionsvermögen nach 72 Stunden 25,4 mg Cu, entsprechend 12,5 mg Glucose.

[1]) Helv. 5, 187, 1922.

Über die Wirkung radioaktiver Substanzen auf den isolierten Uterus.

Von

Susumu Maki (Hokkaido, Japan).

(Aus dem pharmakologischen Institut Würzburg.)

(Eingegangen am 28. August 1924.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

Das Kalium ist der einzige normale Körperbestandteil, der radioaktive Eigenschaften besitzt. *Zwaardemaker*[1]) und seine Schüler suchten in umfangreichen Untersuchungen nachzuweisen, daß das Kalium in Nährlösungen durch andere radioaktive Substanzen eventuell auch durch Bestrahlung ersetzt werden könne. Ihre Versuche und die daraus abgeleiteten Schlußfolgerungen sind nicht unwidersprochen geblieben.

Hamburger[2]) macht darauf aufmerksam, daß die kaliumfreien Lösungen, die *Zwaardemaker* verwendete, „unphysiologisch" zusammengesetzt waren, und glaubt, daß dem Ionengleichgewicht dabei nicht genügend Rechnung getragen worden sei. Eine Reihe von Forschern lehnt die *Zwaardemaker*schen Versuche direkt ab, in erster Linie wendet sich *Zondek*[3]) dagegen auf Grund von Versuchen am isolierten Froschherzen. Auch von *Ph. Ellinger*[4]) konnte die Ersetzbarkeit des Kaliums durch andere radioaktive Substanzen in Versuchen über die Beeinflussung der Oxydationsgeschwindigkeit von roten Blutkörperchen nicht bestätigt werden. *Verzár* und *Scányi*[5]) fanden, daß die fibrillären Zuckungen von quergestreiften Muskeln, die bei Einlegen derselben in Kochsalzlösung auftreten, nicht nur durch Zusatz von Kalium, sondern auch durch andere radioaktive Substanzen aufgehoben werden konnten; die dazu nötigen Mengen standen jedoch nicht in einem äquiradioaktiven Verhältnis.

Außer von Schülern *Zwaardemakers* liegen Versuche von *Soref*[6]) vor, die geeignet sind, die *Zwaardemaker*sche Anschauung zu stützen. *Soref* stellte einen günstigen Einfluß radioaktiver Substanzen auf die überlebende Muskulatur von Meerschweinchenuteri fest.

---

[1]) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **173**, 28, 1918.
[2]) Diese Zeitschr. **139**, 509, 1923.
[3]) Ebendaselbst **121**, 76, 1921.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **116**, 266, 1921.
[5]) Diese Zeitschr. **132**, 53, 1922.
[6]) Journ. of physiol. **54**, 83, 1921.

Die im folgenden beschriebenen Versuche unternahm ich, einerseits um zu der Frage der gegenseitigen Vertretbarkeit radioaktiver Substanzen Stellung nehmen zu können, andererseits um ihren Einfluß auf den isolierten Uterus zu studieren.

Versuchsanordnung.

Es wurden nur Uteri von Schweinen verwendet, die nach den Erfahrungen von *H. Seel* im hiesigen Institut sich wie die Uteri von Meerschweinchen verhalten.

Die Organe, die 5 bis 6 Monate alten Schweinen entnommen waren, wurden stets frisch aus dem Schlachthaus besorgt und in einer mit kalter Tyrodelösung gefüllten Thermosflasche ins Institut gebracht. Aus dem durchschnittlich 1,5 cm dicken Uterus wurden 2 cm lange Stücke ausgeschnitten und nach der Methode von *Magnus-Kehrer* in 100 ccm Tyrodelösung aufgehängt. Es konnten so viele Stücke demselben Organ entnommen werden, auch war es mir möglich, gleichzeitig zwei oder drei Apparate zu benutzen. Eine halbe bis eine Stunde nach Beginn der Durchlüftung zeigten die Uteri in der Regel spontane Bewegungen.

Zwaardemaker[1]) brachte isolierte Herzen, die infolge Mangels an Kalium in der Nährlösung zum Stillstand gekommen waren, durch Bestrahlung wieder in Gang; Mesothorium mußte zu diesem Zwecke 1 bis 16 Minuten, Radium 1 bis 82 Minuten dem Herzen genähert werden. Die Herzen, die auf diese Weise wieder zum Schlagen gebracht wurden, standen jedoch nach einiger Zeit (1 bis 55 Minuten) abermals still; dieser Stillstand war ein dauernder; auch Kalium, zur Nährlösung hinzugefügt, vermochte keine Herztätigkeit mehr auszulösen. Von *Zwaardemaker* wurde der erste vorübergehende Stillstand auf Mangel an radioaktiven Substanzen, der zweite dauernde auf ein Zuviel von Strahlenwirkung bezogen.

Radium und Mesothorium entsenden alle drei Arten von Strahlen. Durch dünne Schichten von Metall oder organische Substanz sind die α-Strahlen leicht absorbierbar. In den Versuchen von *Zwaardemaker* waren die α-Strahlen durch dünne Ebonitkapseln abfiltriert worden; es konnten daher nur β- und γ-Strahlen zur Wirkung gelangen. *Zwaardemaker* glaubt jedoch, die γ-Strahlen vernachlässigen zu dürfen, und bezieht seine Versuchsergebnisse allein auf Wirkung der β-Strahlen.

Nimmt man mit *Zwaardemaker* an, daß in derartigen Versuchen nur die β-Strahlen wirksam sind und die radioaktiven Substanzen nach ihrem äquiradioaktiven Verhältnis sich vertreten können, so ist

[1]) l. c.

es schwer zu erklären, daß bei Annäherung von Radium ein Herz bereits nach einer Minute wieder zu schlagen beginnt, während bei einem zweiten bei gleicher Versuchsanordnung, also gleich großem Strahlenempfang, in der Zeiteinheit hierzu 82 Minuten notwendig sind.

Ferner sprechen gegen die Anschauung *Zwaardemakers*, daß unter physiologischen Bedingungen ein bestimmtes Gleichgewicht an Strahlen vorhanden sei, die Ergebnisse folgender Versuche: Die durch Bestrahlung erneuerte Automatie der Herzen dauerte bei Fortsetzung der Bestrahlung etwa eine halbe Stunde an; entfernte man dagegen das Radium kurze Zeit nachdem die Herztätigkeit wieder zurückgekehrt war, so stand das Herz ebenfalls durchschnittlich nach 25 Minuten still.

Es scheint also nach dem Gesagten nicht eine bestimmte Menge von Strahlen zu sein, die in der Nährflüssigkeit das Kalium zu ersetzen vermag; vielmehr scheint die Wirkung der Strahlen auf einer Reizwirkung des stillstehenden Herzens zu beruhen, die je nach der Ansprechsfähigkeit des betreffenden Organs von verschiedener Größe sein muß; diese Reizung bringt das Herz vorübergehend zu neuem Schlagen, vermag jedoch nicht, eine dauernde Herztätigkeit auszulösen, da nach kurzer Zeit die unphysiologische Salzlösung (kaliumfrei) wieder zur Geltung kommt.

Zur Nachprüfung dieser Versuche von *Zwaardemaker* am Herzen stellte ich Versuche am isolierten Uterus an.

1. Versuche über die Bedeutung des Kaliums für die Uterusbewegungen.

Zunächst suchte ich mich über die Bedeutung der Kaliumionen für die normale Tätigkeit des Uterus zu orientieren; insbesondere auch mir ein Bild über die Folgen eines Mangels wie eines Überschusses dieser Substanz in der Nährlösung auf die Uterusmuskulatur zu machen.

a) Versuche mit kaliumfreier Tyrodelösung.

Nachdem ein Uterus in normal zusammengesetzter Tyrodelösung (200 mg KCl im Liter) spontan kräftig „geschrieben" hatte, wurde die Nährlösung mit einer *kaliumfreien* Salzlösung gewechselt. Nach etwa 20 Minuten wurden die vorher regelmäßigen Bewegungen unregelmäßig; schließlich erschlaffte das Organ immer mehr, bis es endlich in vollkommener Erschlaffung stillstand. Sofortiger Stillstand nach Auswechseln der Lösung wurde sehr selten beobachtet. Wurden nach Erschlaffung 200 mg KCl pro Liter zugegeben, so setzten nach etwa 5 Minuten stets wieder regelmäßige Kontraktionen ein (Abb. 1). Der vorübergehende Kaliummangel ließ also keine Schädigungen zurück.

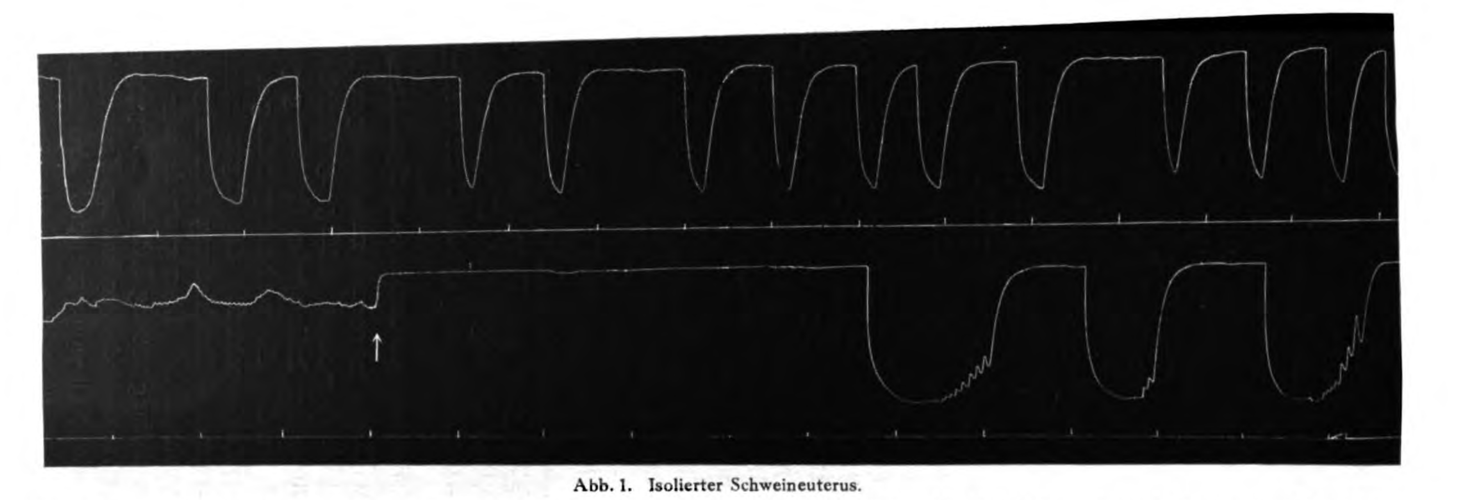


Abb. 1. Isolierter Schweineuterus.

Obere Kurve: Normalkurve. Untere Kurve: Uterus in kaliumfreier Lösung, bei ↑ Zusatz von Kaliumchlorid 0,02 Proz. Zeit: 1 Minute. ↓ = Kontraktion.

b) Versuche bei Kaliumüberschuß in der Tyrodelösung.

Bei doppelt so hohem Gehalt an Kalium als in der Norm wurden die Erschlaffungsperioden länger. War der Gehalt auf das Dreifache erhöht, so wurden die Kontraktionen bald etwas schwächer und unregelmäßiger. Enthielt die Tyrodelösung das Fünffache des physiologischen Gehaltes an Kalium (1000 mg pro Liter), so wurden die Erschlaffungsperioden auf das Fünf- bis Zehnfache des Normalen ausgedehnt.

2. Bestrahlung mit Radium.

a) Versuche bei kaliumfreier Tyrodelösung.

Durch Herrn Geheimrat Dr. *König* (Chirurgische Klinik Luitpoldkrankenhaus) war in dankenswerter Weise dem Institut ein Radiumpräparat zur Verfügung gestellt worden. Es handelte sich um 25,56 mg Radiumbromid, gefiltert durch 1 mm Silber. HED = 6 Stunden.

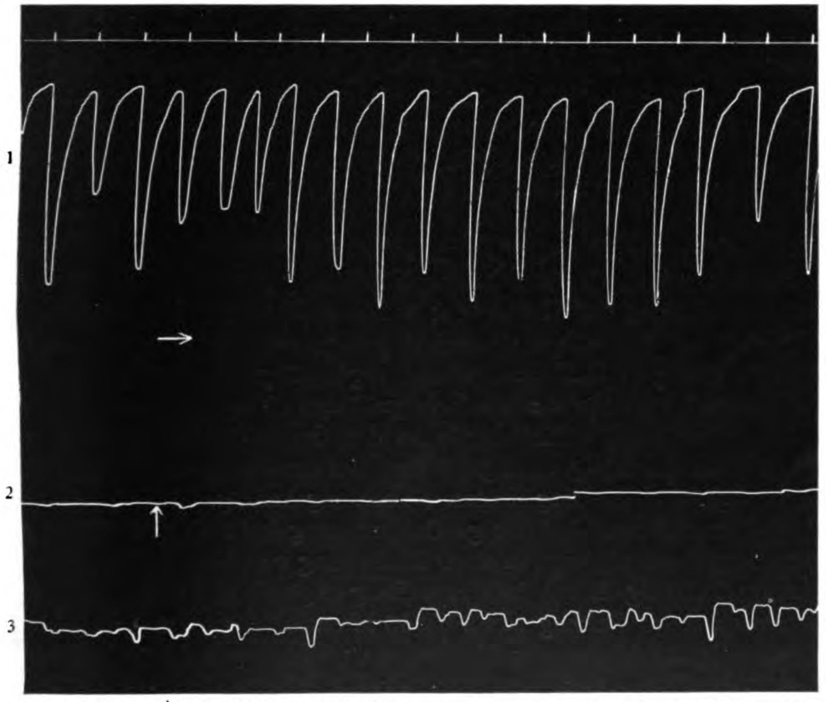


Abb. 2. Schweineuterus: Wirkung der Radiumbestrahlung in kaliumfreier Lösung. Zeit = 1 Min. 1. Normalkurve. 2. Kaliumfreie Lösung; bei ↑ Beginn der Radiumbestrahlung. 3. Radiumwirkung.

Zunächst wurde durch kaliumfreie Lösung ein dauernder Erschlaffungszustand des isolierten Uterus herbeigeführt. Dann wurde das in ein Hämolyseröhrchen von etwa 1 mm Wanddicke gebrachte

Radiumpräparat in einer Entfernung von 1 cm neben dem Uterusstreifen in der Tyrodelösung aufgehängt. Nach einer verschieden langen Einwirkung (1 bis 20 Minuten) traten meist ganz kleine, unregelmäßige Wellenbewegungen des Organs auf (Abb. 2). Entfernung des Präparates hatte zunächst keine Änderung zur Folge, erst nach etwa einer Stunde schwanden diese kleinen Bewegungen und das Präparat verharrte wieder in vollkommener Erschlaffung.

Wurde an Stelle der Bestrahlung Kalium in physiologischer Dosis zugesetzt, so traten nach 5 Minuten normal kräftige Kontraktionen des Uterus ein. Die Radiumbestrahlung schädigte den Uterus nicht. Selbst nach einstündiger Bestrahlung mit Radium war der Uterus bei Zusatz von Kalium stets wieder zu Kontraktionen zu bringen, im Gegensatz zu den von *Zwaardemaker* am isolierten Herzen erhobenen Befunden.

Die verschieden langen Zeiten, die nötig waren, um den Uterus mittels Radium wieder einigermaßen in Gang zu bringen, sprechen gegen die Anschauung, daß dazu eine bestimmte Strahlenmenge notwendig ist. Der prompte Erfolg, den der jeweilige Zusatz von Kalium zur Nährlösung hatte, dürfte in erster Linie auf eine Ionenwirkung zurückzuführen sein. Wäre dabei nur eine Strahlenwirkung beteiligt gewesen, so wäre eher durch eine Überdosierung von Strahlen eine Schädigung des Organs zu erwarten gewesen.

b) Versuche bei calciumfreier Tyrodelösung.

Bei Mangel an Calcium in der Nährlösung trat ohne Ausnahme sofort Erschlaffung des Uterus ein; wurde Calcium in physiologischer Menge (200 mg Chlorcalcium pro Liter) zugesetzt, so erfolgten selbst nach dreistündigem Stillstande wieder regelmäßige Kontraktionen.

Wurde Calcium in der dreifach größeren Menge als normal zugesetzt, so wurden die Kontraktionen des Uterus häufiger, erfolgten aber noch durchaus regelmäßig. Selbst bei der 25fachen Menge von Calcium arbeitete das Organ immer noch regelmäßig. Wurde neben einem Uterusstreifen, der infolge Calciummangels in der Nährlösung vollkommen erschlafft war, in einer Entfernung von 1 cm das Radiumpräparat (25,56 mg RBr_2) in einem Reagenzgläschen aufgehängt, so traten nach einer Wirkung von 2 bis 10 Minuten kleine Kontraktionen auf, die allmählich etwas größer wurden; eine regelmäßige kräftige Tätigkeit des Uterus wurde dadurch jedoch nicht erreicht (vgl. Abb. 3); in einigen Fällen blieb das Organ auch im Erschlaffungszustande. Diese verschiedenartige Einwirkung von Radium dürfte auf der wechselnden Schädigung durch die Vorbehandlung mit calciumfreier Tyrodelösung beruhen. Wurde Calcium zugegeben, so erfolgten stets sofort wieder kräftige und regelmäßige Kontraktionen.

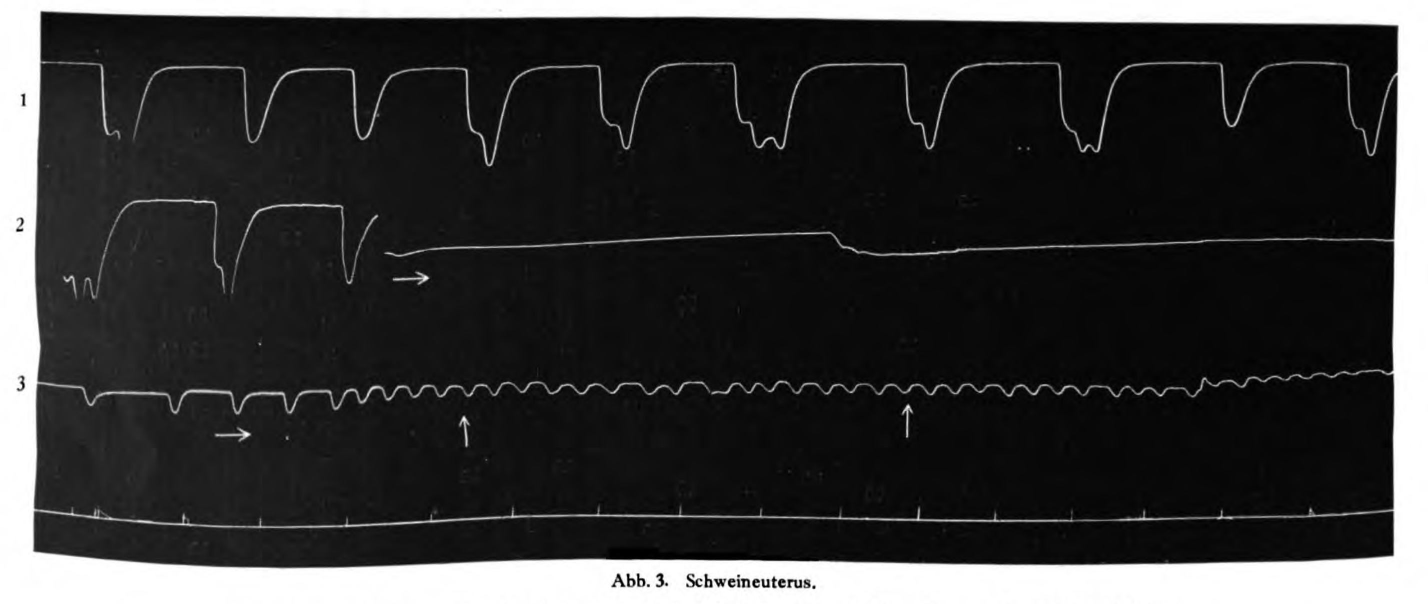


Abb. 3. Schweineuterus.

Wirkung der Radiumbestrahlung in calciumfreier Lösung; Zeit = 1 Min. 1. Normalkurve. 2. → Ca-freie Lösung; 3. → Radiumwirkung; bei ↑ Radium weg; bei ↑ Radiumzugabe.

Wäre durch die Einwirkung der Radiumstrahlen bei Mangel von Calcium keinerlei Kontraktion zustande gekommen, so bestände die Möglichkeit, daß Kalium durch β-Strahlen ersetzbar sei. Da aber Bestrahlung bei Mangel von Calcium ebenso wirkt wie bei Mangel an Kalium, muß man wohl für beide Erscheinungen andere Gründe suchen.

3. Wirkung von Radium auf den isolierten Uterus in physiologischer Lösung (Tyrode).

Zum Vergleich mit den eben mitgeteilten Versuchen prüfte ich weiter die Wirkung von Radium auf den Uterus unter normalen Bedingungen. Zunächst ließ ich einen Uterusstreifen eine normale Kurve „schreiben" (Abb. 4). Darauf wurde das Organ mit Radium bestrahlt. Anfangs zeigte sich keine Veränderung in der Tätigkeit des Uterus. Nach etwa 30 Minuten Einwirkung trat besonders bei nicht ganz regelmäßig arbeitenden Organen ein Umschwung ein (Abb. 4). Die Kontraktionen wurden kleiner und erfolgten häufiger; das Bild war ähnlich wie bei der Einwirkung von Pilocarpin (in einer Konzentration von 1 : 100 Millionen bis 1 : 10 Millionen) oder Physostigmin (in einer Konzentration von 1 : 50 Millionen)[1]. Allmählich traten zwischen den zahlreichen kleinen Kontraktionen vereinzelte größere auf, bis allmählich nur noch große, in längeren Zeitabschnitten auftretende Kontraktionen erfolgten. Schließlich wird die Kurve ganz regelmäßig. Es wurde dabei der Eindruck erweckt, als ob gewisse Reize gehemmt würden, die die kleinen Zacken in der „Normalkurve" bedingen, so daß nur noch bei einer gewissen Summation von Reizen eine reguläre Kontraktion zustande käme. — Auch eine längere Bestrahlung (bis zu 2 Stunden) änderte an dem beschriebenen Bilde nichts. Ebensowenig führte Entfernung des Präparats in der nächsten halben Stunde eine Änderung herbei.

4. Versuche am isolierten Herzen.

Zum Vergleich mit der Wirkung der Radiumstrahlen auf den Uterus studierte ich auch ihre Wirkung auf das isolierte Herz von Rana esculenta. Methode nach *W. Straub*. Das Radiumpräparat wurde ohne Reagenzglas, nur durch eine 1 mm dicke Silberkapsel gefiltert, in $\frac{1}{2}$ cm Entfernung dem Herzen gegenüber gehängt. Nach 10 Sekunden bis 1 Minute wurden die Pulsschläge langsamer, die Hubhöhe nahm etwas zu. Dann erfolgten längere Pausen in diastolischem Zustande, unterbrochen von „Gruppenbildung" (15 bis 30 Schläge). Bei Entfernung

[1]) Unveröffentlichte Versuche von Herrn Dr. *Seel*.

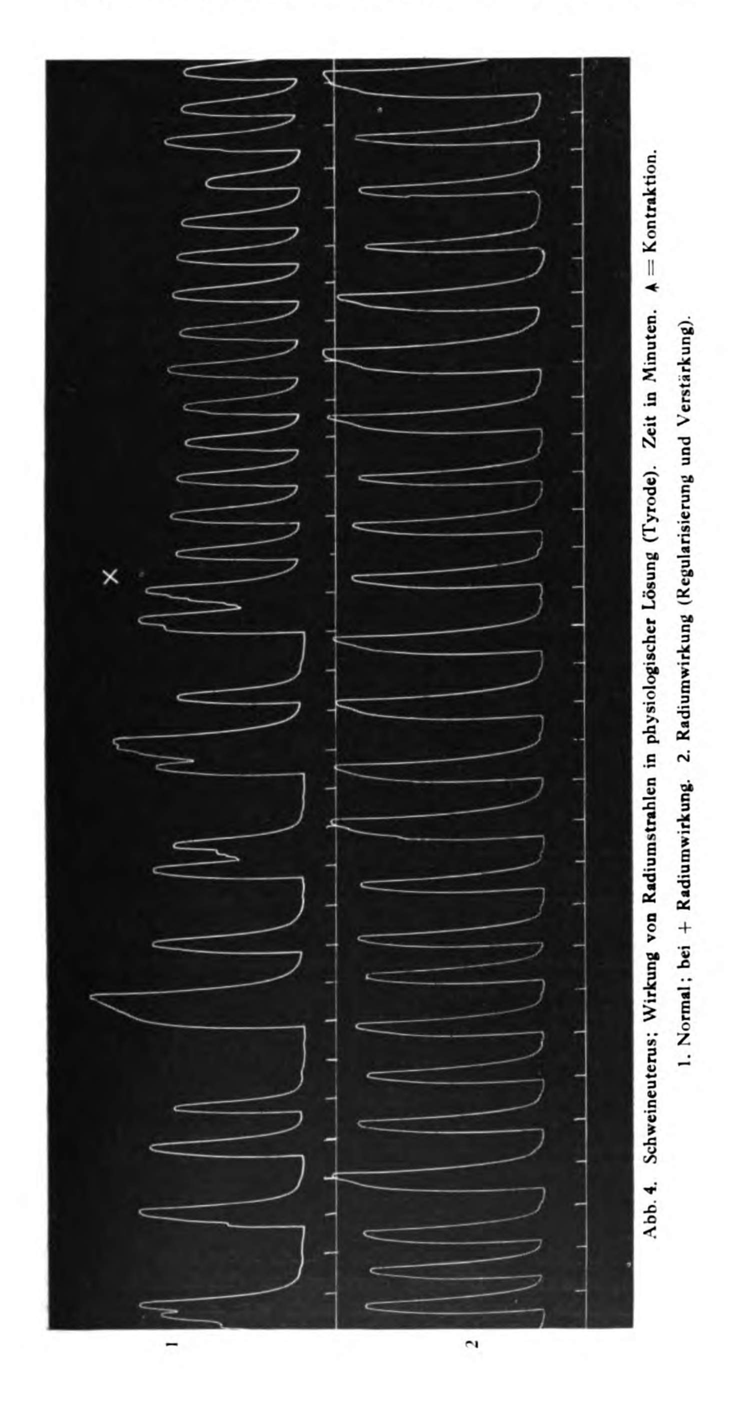


Abb. 4. Schweineuterus; Wirkung von Radiumstrahlen in physiologischer Lösung (Tyrode). Zeit in Minuten. ↑ = Kontraktion.

1. Normal; bei + Radiumwirkung. 2. Radiumwirkung (Regularisierung und Verstärkung).

des Radiums trat nach einiger Zeit wieder die normale Herztätigkeit auf[1]) (Abb. 5a u. 5b).

Wurde im Zustande der eben beschriebenen Gruppenbildung Atropin 1 : 200000 bis 1 : 100000 zugegeben, so verschwand nach einiger Zeit die Gruppenbildung; der Puls schlug langsam, aber regelmäßig; eine weitere Radiumbestrahlung veränderte den Rhythmus nicht mehr. Diese Verhältnisse zeigten eine gewisse Ähnlichkeit der Radiumwirkung mit der von Muskarin, zumal nach Vorbehandlung des Herzens mit Atropin ein Einfluß des Radiums nicht zur Geltung kam. Die Tatsache, daß das Herz stets aktionsfähig blieb, spricht gegen eine Schädigung der Herzmuskulatur durch das Radium, wenigstens bei der verhältnismäßig kurzen Zeit, in der ich das Präparat verwendete. Es handelte sich dabei offenbar um eine Schädigung der nervösen Elemente, insbesondere auch des Reizleitungssystems; vorwiegend dürfte der Vagus betroffen worden sein, wofür ja auch die *Zwaardemaker*schen Versuche sprechen.

5. Versuche über die Wirkung von Radiothorium, Uran und Thorium auf den isolierten Uterus.

Außer Radiumstrahlen prüfte ich auch den Einfluß einiger in Lösung befindlicher radioaktiver Substanzen auf den Uterus. Die Überlassung der bezüglichen Präparate verdanke ich durch die Vermittlung von Prof. *Flury* der Liebenswürdigkeit der Chemischen Werke vorm. Auergesellschaft (Berlin) und dem Entgegenkommen des Herrn Prof. Dr. *Otto Hahn* (Kaiser Wilhelm-Institut, Berlin-Dahlem).

a) Versuche bei kalifreier Tyrodelösung.

Nach *Zwaardemaker* sind folgende Dosen, gelöst in 1 Liter, äquiradioaktiv:

	Winterdosierung mg	Sommerdosierung mg
Kaliumchlorid	100	20—50
Uranylnitrat	25	0,6— 6
Thoriumnitrat	50	2—10
Radiumsalz	0,000 005	0,000 003

Nach *H. Raad*[2]) sind folgende Mengen optimal für den Uterus:

Maus	100 mg	Kaliumchlorid pro Liter in der Nährlösung
Kaninchen	150 mg	
Meerschweinchen . .	300 mg	

10 mg Uranylnitrat (1 : 100000),
40 mg Thoriumnitrat (1 : 25000).

[1]) Eine ähnliche Wirkung stellte *Th. A. Mass* fest, der isolierte Herzen mit emanationhaltiger Lösung durchspülte (Med. Klinik Jahrg. 1911, Nr. 29). Ähnliche Versuche wurden auch von *A. Fröhlich* angestellt und dabei ein günstiger Einfluß der Emanation auf ermüdete Herzen festgestellt (Zeitschr. f. exper. Med. **35**, 1, 1923). — [2]) Thesis Utrecht 1922; ref. Physiological Abstracts (Great Britain and Irland) **8**, 145, 1923.

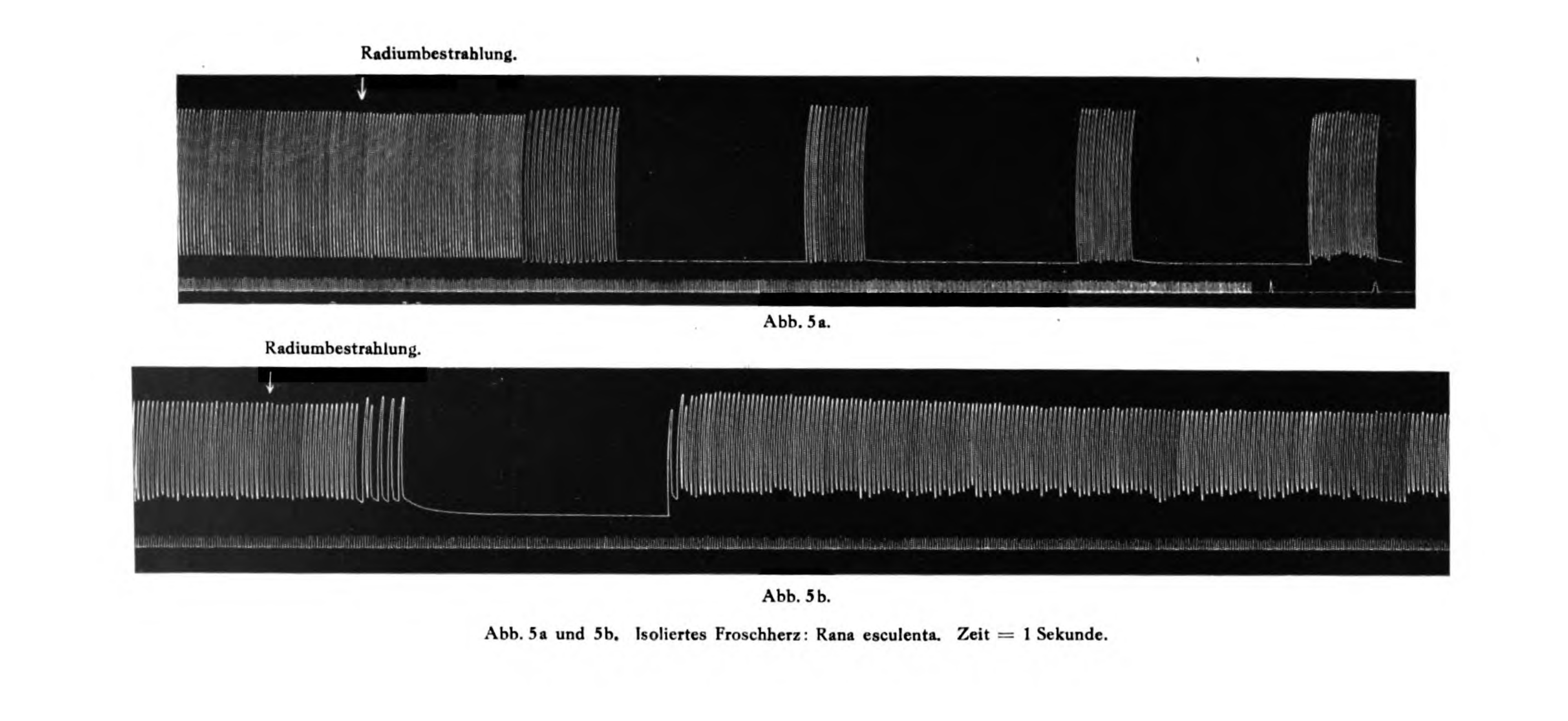


Abb. 5a und 5b. Isoliertes Froschherz: Rana esculenta. Zeit = 1 Sekunde.

Die von mir verwendete Tyrodelösung enthielt 200 mg Kaliumchlorid pro Liter. Dabei erhielt ich stets regelmäßige Kontraktionen des Uterus (von Schweinen). Bei Weglassen des Kaliums wurden die

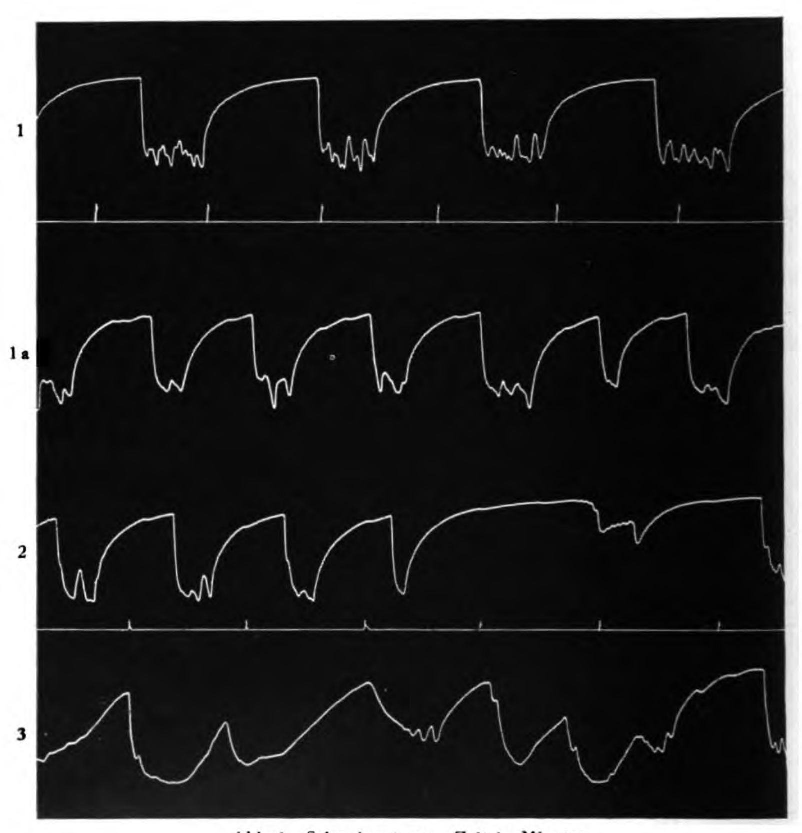


Abb. 6. Schweineuterus. Zeit in Minuten.
1. Normal. 2. Kaliumfreie Lösung. 3. Unregelmäßige Kontraktionen infolge Kaliummangels.

Kontraktionen unregelmäßig, schließlich erschlaffte das Organ. An Stelle des Kaliums wurden nun die in der Überschrift genannten radioaktiven Substanzen in verschiedenen Konzentrationen geprüft; dabei schloß ich mich größtenteils an die eben angegebenen Zahlen an.

Versuche mit Radiothorium.

Hierzu verwendete ich eine Lösung von Radiothorium, die 0,268 mg RaTh (bezogen auf die γ-Strahlung eines Milligramms Radiumelement) mit 10 mg Thoriumnitrat in 50 ccm Wasser enthält (= auf $RaBr_2 \cdot 2H_2O$ umgerechnet: 0,5 mg:50 ccm).

Nach *Zwaardemaker* ist eine Konzentration von $1 : 2 . 10^{11}$ bis $1 : 3{,}3 . 10^{11}$ Radiumsalz mit 1 : 10000 bis 50000 Kalium äquiradioaktiv. Ich verwendete daher meine Radiothoriumlösung, umgerechnet auf $RaBr_2$, in Verdünnungen von $1 : 10^{10}$ bis $1 : 10^{15}$. War der Uterus durch den Mangel an Kalium vollkommen erschlafft, so erfolgten bei

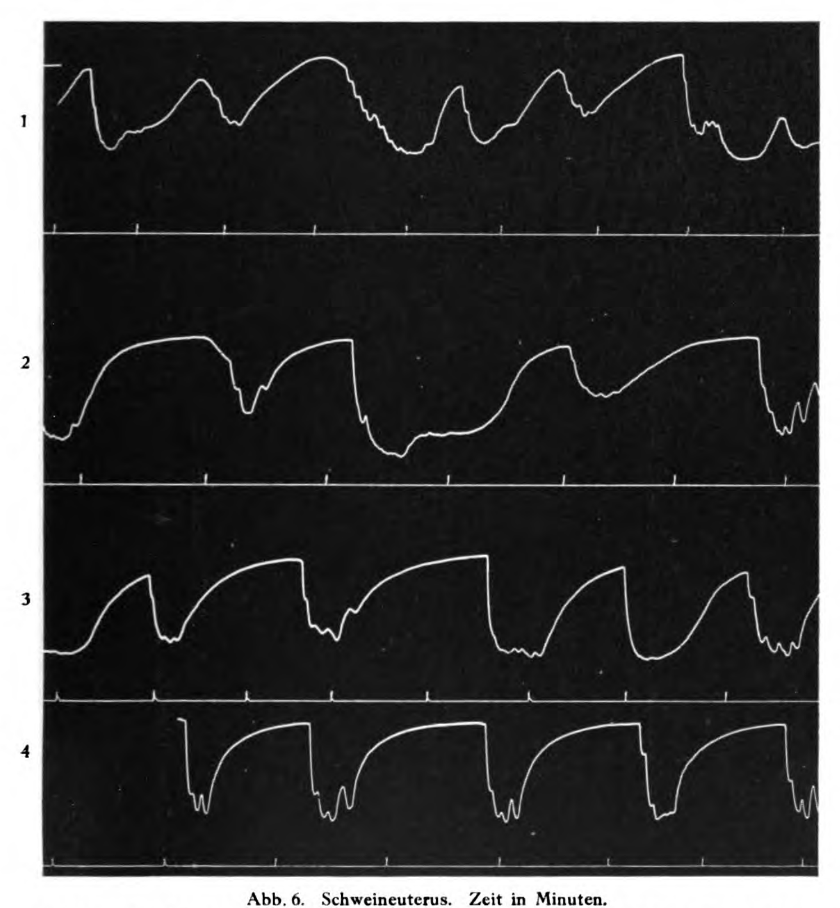


Abb. 6. Schweineuterus. Zeit in Minuten.
1. Kaliumfreie Lösung. 2. Zusatz von Urannitrat 1 : 1000000. 3. u. 4. Regularisierung durch Urannitrat 1 : 100000.

Zusatz von Radiothorium ($1 : 10^{10}$) kleine Kontraktionen, aber niemals trat eine vollkommene Erholung mit normaler Tätigkeit des Organs ein. Bei schwächerer Konzentration ($1 : 10^{15}$) wurden die durch Radiothorium ausgelösten Kontraktionen allmählich wieder schwächer und hörten schließlich ganz auf.

1

2

Abb. 7. Schweineuterus. Zeit in Minuten.

Radiothorium in physiologischer Lösung (Tyrode). 1. Normal, bei ↑ Radiothorium ($1:2{,}5 \cdot 10^{14}$ $RaBr_2$). 2. Regularisierung durch Radiothorium.

Versuche mit Urannitrat.

Verwendet wurden Verdünnungen von 1 bis 500 mg pro Liter (1 : 1000000 bis 1 : 2000). Wiederholte Versuche zeigten, daß das fehlende Kalium durch Urannitrat nicht zu ersetzen war. Nur in einem einzigen Falle, in dem der Uterus nach Kaliumentzug noch nicht vollkommen erschlafft war, sondern noch kräftig, wenn auch unregelmäßig sich kontrahierte, hatte Zusatz von Urannitrat (1 : 100000) eine vollkommene Erholung des Uterus zur Folge (Abb. 6). Diese blieb für die Zeit von 40 Minuten bestehen, dann wurde die Tätigkeit des Organs wieder unregelmäßig. Weiterer Zusatz von Urannitrat hatte keinen Einfluß. Ebenso war verschiedentliche Wiederholung des Versuchs mit gleicher Konzentration ohne Ergebnis.

Versuche mit Thoriumnitrat.

Anwendung in denselben Verdünnungen wie Urannitrat (1 : 1000000 bis 1 : 2000). Die oben in einem Falle beobachtete Wirkung des Urannitrats trat bei Thoriumnitrat wiederholt ein; eine vollkommene Erholung des durch Kaliummangel geschädigten Organs war jedoch dadurch auch nicht zu erzielen. Die stärkeren Konzentrationen bewirkten Zunahme der Erschlaffungsperioden.

b) Versuche bei normaler (kaliumhaltiger) Tyrodelösung.

Zur Kontrolle wurden Versuche mit den drei Substanzen auch an Uteris angestellt, die unter normalen Bedingungen, d. h. in kaliumhaltiger Tyrodelösung standen.

Radiothorium, berechnet auf Radiumbromid ($1 : 2{,}5 \cdot 10^{14}$), also in äußerst starker Verdünnung, bewirkte in einer Reihe von Fällen, daß die nicht sehr regelmäßigen und in längeren Pausen erfolgenden Kontraktionen des Uterus in beschleunigter Folge auftraten; die Kontraktionen selbst wurden kleiner und bald vollkommen regelmäßig (Abb. 7). Stärkere Lösungen ($1 : 10^{13}$) bewirkten allmählich Erschlaffung des Organs. Zu erwähnen ist jedoch, daß in einigen Fällen die Verdünnungen bis zu $1 : 10^{13}$ ohne jede Wirkung waren.

Urannitrat und Thoriumnitrat (1 : 100000) wirkten vorübergehend regulierend auf die Tätigkeit des Uterus (Abb. 8). Größere Dosen (1 : 1000) hatten Erschlaffung zur Folge, dabei kam es zur Trübung der Nährlösung, wohl infolge von Eiweißfällung durch die in solchen Konzentrationen das Protoplasma schädigenden Pharmaka.

Die geprüften radioaktiven Substanzen wirken also bei sehr hoher Verdünnung im Sinne einer Regulierung auf die Bewegungen des normalen Uterus, in stärkeren Konzentrationen führen sie zu einer Erschlaffung des Organs. Diese regularisierenden Wirkungen waren aber, wenn der Uterus sich in einer unphysiologischen Lösung (unter

Kaliummangel) befand, oft nur angedeutet. Von einem wirklichen und vollkommenen Ersatz des Kaliums durch diese Substanzen konnte bei meinen Versuchen kaum gesprochen werden.

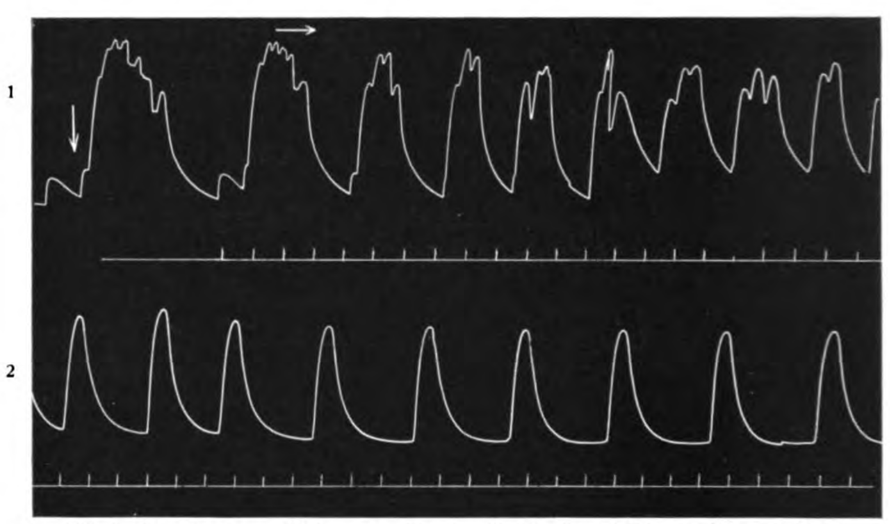


Abb. 8. Schweineuterus. Wirkung von *Thoriumnitrat* in physiol. Lösung. Zeit = 1 Minute. 1. Normal. 2. Regularisierung durch Thoriumnitrat 1 : 100000.

Zusammenfassung.

1. In einer kaliumfreien Salzlösung arbeitet der isolierte Uterus junger Schweine bald unregelmäßig, und es erfolgt allmählich Erschlaffung des Organs. Bei Zusatz von Kalium in physiologischer Menge tritt nach ungefähr 5 Minuten wieder die normale Tätigkeit auf und hält viele Stunden an.

2. Einwirkung von Radiumstrahlen auf den in kaliumfreier Lösung suspendierten Uterus hat nach 1 bis 20 Minuten das Auftreten von kleinen, unregelmäßigen Kontraktionen zur Folge. Die Wirkung ist aber nur vorübergehend. Nach einiger Zeit kehrt das Organ in den Zustand der Erschlaffung zurück. Im Gegensatz dazu tritt bei Zusatz von Kalium wieder vollkommene Erholung ein.

3. Bei Fehlen von Calcium in der Tyrodelösung erfolgt sofortiger Stillstand des Uterus. Einwirkung von Radium kann in diesem Zustande kleine, unregelmäßige Kontraktionen auslösen. Die Radiumbestrahlung kann das Calcium aber nicht ersetzen.

4. Ist der Uterus von normaler Tyrodelösung umspült, so bewirken Radiumstrahlen eine Beschleunigung und Regulierung seiner Tätigkeit; die einzelnen Kontraktionen werden dabei kleiner. Die Wirkung des Radiums ist dabei durchaus ähnlich der Wirkung von

Pilocarpin und Physostigmin. Selbst eine 2 Stunden lang dauernde Einwirkung verursacht keine bleibende Schädigung des Organs.

5. Auch am isolierten Froschherzen (Wasserfrosch) ruft Einwirkung von Radium ähnliche Erscheinungen hervor wie Pilocarpin und andere Stoffe der Muscarinreihe. Es kommt zu Pulsverlangsamung, Gruppenbildung, Neigung des Herzens, in diastolischem Zustande zu verharren; dieser Zustand wird durch Atropin beseitigt.

6. Radiothorium verursacht bei Einwirkung auf den Uterus schon bei der geringen Konzentration von $1 : 2{,}5 \,.\, 10^{14}$ Beschleunigung und Verkleinerung der Kontraktionen. Die verschiedenartigsten Verdünnungen vermögen keine Erholung des durch Kaliummangel geschädigten Organs herbeizuführen.

7. Uran- und Thoriumnitrat konnten bei zahlreichen Versuchen Kalium nicht ersetzen. Nur einmal wurde eine vorübergehende regulierende Einwirkung von Uransalz auf die durch Kaliumentzug unregelmäßig gewordenen Uteruskontraktionen beobachtet (Urannitrat 1 : 100000).

In normaler Tyrodelösung wirken beide Substanzen in Konzentrationen von etwa 1 : 100000 regulierend auf spontan unregelmäßige Uterusbewegungen ein.

Überblicken wir die sämtlichen Versuchsergebnisse, so sprechen sie nicht für eine Ersetzbarkeit des Kaliums durch andere radioaktive Substanzen oder durch Radiumbestrahlung bei den automatischen Bewegungen des isolierten Uterus. Die Wirkung der Radiumstrahlen auf den isolierten Uterus und das isolierte Herz erscheint bei kurzer Wirkungsdauer in erster Linie als eine Beeinflussung der nervösen Elemente, insbesondere des Vagus, so daß sie sich der Wirkung der parasympathisch erregenden Arzneimittel anschließt. Ob eine direkte Nervenwirkung oder eine Beteiligung von Zellzerfallsprodukten, die durch die Bestrahlung entstehen könnten, vorliegt, kann einstweilen noch nicht entschieden werden.

Auch die Wirkung von Radiothorium dürfte auf Strahlenwirkung zurückzuführen sein, da bei den angewendeten hohen Verdünnungen $(1 : 2{,}5 \,.\, 10^{14})$ eine Ionenwirkung (Eiweißfällung und dergleichen) praktisch nicht in Frage kommt.

Letztere ist dagegen bei den Versuchen mit Uran- und Thoriumsalzen zweifellos mitbeteiligt.

Beiträge zur Biochemie der Avitaminosen.

Von

Alexander Palladin.

Nr. I.

Kohlehydratstoffwechsel bei experimentellem Skorbut.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium des medizinischen Instituts zu Charkow.)

(Eingegangen am 30. August 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Solange die chemische Natur der Vitamine nicht aufgeklärt ist und wir nicht imstande sind, dieselben in chemisch reiner Form — sei es durch Isolierung aus den einen oder anderen Produkten, sei es durch Synthese in unseren Laboratorien — darzustellen, solange bildet das Studium des Stoffwechsels bei den verschiedenen Formen der Avitaminose fast die einzige Möglichkeit, zu einer Aufklärung der Rolle der Vitamine im tierischen Körper zu gelangen. Daher wurden von mir Untersuchungen angestellt, die dartun sollten, welche chemische Prozesse im Tierorganismus bei einer Unterbrechung in der Verabreichung von diesen oder jenen Vitaminen an das Tier Störungen erfahren und worin diese Störungen bestehen.

In erster Reihe beschäftigten wir uns mit der systematischen Untersuchung des Einflusses des experimentellen Skorbuts auf die verschiedenen Momente des Kohlehydrat-, Stickstoff- und Mineralstoffwechsels bei Meerschweinchen. In der vorliegenden Arbeit werden die Untersuchungsresultate, die die Vorgänge des Kohlehydratstoffwechsels betreffen, mitgeteilt [1]).

Bezüglich des Kohlehydratstoffwechsels bei Avitaminosen gab es zu Beginn unserer Untersuchungen nur die Angaben von *Funk* und *Schönborn* [2]).

---

[1]) Diese Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel beim Skorbut wurden gemeinsam mit Dr. *G. Gorodissky* ausgeführt.

[2]) *C. Funk* und *Schönborn*, Journ. of Physiol. 48, 328, 1914.

die bei polyneuritischen Tauben eine Hyperglykämie festgestellt hatten. Fast gleichzeitig mit der Veröffentlichung meiner ersten vorläufigen Mitteilung[1]) über die weiter unten zu schildernden Untersuchungen erschien eine Arbeit von *Collazo*[2]), die sich mit der Frage des Blutzuckers bei den verschiedenen Formen der Avitaminose, darunter auch beim Skorbut, beschäftigt, sowie später eine zweite Arbeit desselben Verfassers über das Glykogen bei der Avitaminose. Die von *Collazo* bezüglich des Einflusses des Skorbuts auf den Blutzucker gewonnenen Resultate stimmen nicht ganz mit den meinigen überein, worüber weiter unten Näheres gesagt wird.

Zur Aufklärung des Einflusses, den der experimentelle Skorbut auf die Vorgänge des Kohlehydratstoffwechsels ausübt, studierten wir die Einwirkung des Skorbuts auf den Blutgehalt an Zucker und Amylase, sowie den Lebergehalt an Glykogen.

Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen von einem Gewicht nicht unter 350 g. Diese Meerschweinchen wurden vor dem Versuch mit Hafer und Rüben (und Wasser) gefüttert. Bei dieser Nahrung wurde der normale Blutgehalt an Glykose und Amylase, sowie der normale Lebergehalt an Glykogen festgestellt. Hierauf wurde die Nahrung geändert und die Meerschweinchen wurden, um einen experimentellen Skorbut hervorzurufen, nur mit Hafer und gekochtem Wasser gefüttert. Als Resultat einer solchen Nahrung trat Skorbut auf, dessen von *Holst* und *Fröhlich* beschriebene Symptome vom Ende der dritten Woche der Haferfütterung an sich zeigten. Im allgemeinen stimmte das Skorbutbild mit dem von *Holst* und *Fröhlich* und anderen Autoren beschriebenen vollständig überein.

Die Bestimmung des Blutzuckers wurde nach der Mikromethode von *I. Bang*[3]) (alte Modifikation) ausgeführt.

Die Bestimmung der Blutamylase wurde auf folgende Weise ausgeführt: Das Blut wurde aus der A. carotis in ein trockenes, sorgfältig ausgewaschenes Reagenzglas aufgefangen und zentrifugiert; das Serum wurde abgegossen und sofort die Bestimmung seines Gehaltes an Amylase nach der Methode von *Wohlgemuth*[4]) vorgenommen.

Der Glykogengehalt in der Leber wurde nach den Angaben von *Tschannen*[5]), sowie *Abelin* und *Jaffe*[6]) bestimmt.

[1]) Die erste vorläufige Mitteilung, in welcher der Einfluß des Skorbuts auf den Blutzucker, Blutamylase und Leberglykogen beschrieben war, wurde in der russischen Zeitschrift „Wratschebnoje Djelo", Nr. 22 bis 24, 1922 veröffentlicht; später wurde die vorläufige Mitteilung in der Klinischen Wochenschrift Nr. 29, 1923, abgedruckt.

[2]) Die Arbeit von *Collazo* über den Blutzucker erschien in dieser Zeitschr. **134**, 194, 1922; die Arbeit über Glykogen ebendaselbst **136**, 20, 1923.

[3]) *I. Bang*, Mikromethoden zur Blutuntersuchung, 3. Aufl., 1922; diese Zeitschr. **49**, 19, 1913; **57**, 300, 1913; **77**, 298, 1916.

[4]) *Wohlgemuth*, Grundriß der Fermentmethoden, 1913.

[5]) *Tschannen*, diese Zeitschr. **59**, 207, 1914.

[6]) *Abelin* und *Jaffe*, ebendaselbst **102**, 72, 1920.

1. Blutzucker.

Die Untersuchungen zeigten, daß *der Zuckergehalt* (Glykose) *im Blute der Meerschweinchen unter normalen Nahrungsbedingungen zwischen 0,092* und *0,104 Proz. schwankt.* Beim Übergang zu einer Nahrung, in welcher das antiskorbutische Vitamin C fehlte, begann der Zuckergehalt des Blutes sich zu ändern, und zwar im Sinne einer Ansteigung; *es trat eine Hyperglykämie auf.* Diese Hyperglykämie nahm allmählich zu und *erreichte ein bestimmtes Maximum, worauf sie wiederum abzunehmen begann,* so daß der Zuckergehalt des Blutes zur Norm zurückkehrte; *das Sinken des Blutzuckers* machte jedoch auf dieser Norm nicht halt, *sondern schritt immer vorwärts*; *somit trat eine Hypoglykämie ein.* Diese Hypoglykämie verstärkte sich mehr und mehr, bis das Tier an Skorbut einging. *Der Zuckergehalt des Blutes erreichte sein Maximum am 9. bis 15. Tage der Avitaminose*; dieses Maximum betrug 0,190 bis 0,229 Proz. Mithin war die Hyperglykämie eine sehr starke; aber auch die Hypoglykämie war ziemlich stark ausgesprochen, indem sie 0,050 bis 0,035 Proz. erreichte.

Zur Erläuterung des Gesagten mögen die Protokolle, die in den Tabellen I und II angeführt sind, dienen.

Sowohl in diesen Versuchen als auch in den anderen wurde der Blutzucker jeden dritten Tag bestimmt. Im Versuch 1 (Tabelle I) stieg der Zuckergehalt des Blutes am dritten Vitaminhungertage auf 0,119 Proz. an (statt 0,095 bis 0,099 Proz., die in der Norm vorhanden waren); im Versuch 2 (Tabelle II) hatten wir am dritten Tage einen Zuckergehalt von 0,115 Proz. Diese *Hyperglykämie* nahm in der Folge immer mehr und mehr zu und erreichte im ersten Versuch am 15. bis 18. Skorbuttage ihr Maximum von 0,182 Proz., während im zweiten Versuch das Maximum von 0,170 Proz. am 15. Skorbuttage erreicht wurde. Hierauf begann die Hyperglykämie, wie aus den Protokollen zu ersehen ist, abzunehmen; am 31. Tage (Tabelle I) bzw. am 24. Tage (Tabelle II) erreichte der Zuckergehalt des Blutes die Norm, blieb jedoch auf dieser Norm nicht stehen, sondern nahm immer weiter ab, so daß eine *Hypoglykämie* eintrat. Diese Hypoglykämie nahm bis zum Tode der Tiere zu. Meerschweinchen Nr. 3 (Tabelle I) wurde am 38. Tage getötet, als es Anzeichen eines nahen Todes aufwies; am 37. Tage betrug die Hypoglykämie bei demselben 0,050 Proz.; Meerschweinchen Nr. 12 (Tabelle II) hatte am 40. Tage 0,065 Proz. Zucker im Blute und wurde am 41. Tage getötet, als sich Zeichen eines nahen Todes zeigten.

Ein ebensolches Bild vom Einfluß des Skorbuts auf den Blutzucker gaben uns unsere übrigen Versuche, deren wir etwa 20 angestellt haben, wie dies aus weiteren Versuchsprotokollen, die in den Tabellen V bis XVII angeführt sind, ersichtlich ist.

Tabelle I.

Meerschweinchen Nr. 3, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung	Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
18. VI.	360		Normal ernährt (Hafer und Rüben)	13. VII.	427	0,181	Hafer
19. VI.	411	0,099		14. VII.	442		
20. VI.	389			15. VII.	445		
21. VI.	405			16. VII.	440	0,163	
22. VI.	396	0,097		17. VII.	447		
23. VI.	408			18. VII.	451		
24. VI.	403			19. VII.	449	0,145	
25. VI.	380	0,095		20. VII.	440		
26. VI.	379		Hafer	21. VII.	441		
27. VI.	380		(Skorbut erzeugendes Futter)	22. VII.	438	0,121	
28. VI.	385	0,119		23. VII.	440		
29. VI.	390			24. VII.	435		
30. VI.	390			25. VII.	432		
1. VII.	400	0,135		26. VII.	428	0,095	
2. VII.	403			27. VII.	421		
3. VII.	425			28. VII.	413		
4. VII.	425	0,155		29. VII.	382	0,078	
5. VII.	424			30. VII.	360		
6. VII.	430			31. VII.	345		
7. VII.	425	0,170		1. VIII.	324	0,050	
8. VII.	430			2. VIII.	301		Getötet
9. VII.	434						
10. VII.	435	0,182					
11. VII.	440						
12. VII.	440						

Sektionsprotokoll. Blutergüsse an den Ansatzstellen der Rippen an die Rippenknorpel; Backzähne lose; Magen und Dünndarm aufgetrieben. Gewicht der Leber = 12,5 g. Meerschweinchen Nr. 3 wurde am 39. Tage des Skorbuts getötet. *Glykogengehalt* der Leber = 0,48 Proz.

Wie unsere Versuche gezeigt hatten, *hat die Hyperglykämie beim Skorbut keine Glykosurie zur Folge.* In keinem Falle können wir die Anwesenheit von Zucker im Harn feststellen (vgl. Tabellen VII und VIII).

In der oben erwähnten Arbeit von *Collazo*[1]) sind die Protokolle von vier Versuchen mit Meerschweinchen angeführt. Bei diesen Versuchen kam er zu Resultaten, die mit den von uns bei unseren Versuchen gewonnenen nicht übereinstimmen. Das erste Meerschweinchen im Versuch von *Collazo* ging am 19. Tage der Skorbuterkrankung ein. In der ersten Skorbutwoche trat bei ihm eine Hypoglykämie auf, die dann allmählich in eine Hyperglykämie überging; das Meerschweinchen ging ein, als die Hyperglykämie auf ihrem Höhepunkt sich befand. Das zweite Meerschweinchen lebte nur 13 Tage und zeigte während dieser ganzen Zeit eine Hypoglykämie.

---

[1]) *Collazo*, diese Zeitschr. **134**, 194, 1922.

Tabelle 11.

Meerschweinchen Nr. 12, männlich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung	Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
18. VI.	590		Normal	5. VII.	647		
19. VI.	660	0,095		6. VII.	656		
20. VI.	663			7. VII.	640	0,160	
21. VI.	670		Hafer	8. VII.	630		
22. VI.	640	0,092	und	9. VII.	628		
23. VI.	673		Rüben	10. VII.	615	0,170	
24. VI.	670			11. VII.	628		
25. VI.	650	0,101		12. VII.	630		Hafer
26. VI.	624			13. VII.	623	0,156	Skorbut
27. VI.	625			14. VII.	630		
28. VI.	630	0,115		15. VII.	631		
29. VI.	630		Hafer	16. VII.	638	0,158	
30. VI.	620		Skorbut	17. VII.	630		
1. VII.	626	0,121		18. VII.	610		
2. VII.	638			19. VII.	598	0,097	
3. VII.	640			26. VII.	450	0,065	
4. VII.	648	0,142		27. VII.	450		Getötet

Sektionsprotokoll. Backzähne lose; Blutergüsse an den Rippenenden; Nephritis parenchymotosa. Meerschweinchen Nr. 12 wurde am 33. Tage des Skorbuts getötet. *Leberglykogen* = 0,5 Proz. *Blutamylase* = $D_{1h}^{38^{0}} = 8$.

Das dritte und vierte Meerschweinchen, welche an Skorbut erkrankt 33 bzw. 38 Tage gelebt haben, kommen somit der Lebensdauer nach unseren Meerschweinchen am allernächsten. Beim dritten Meerschweinchen bestand am dritten bis vierten Skorbuttage eine Hypoglykämie (0,088 Proz.), die dann von einer Hyperglykämie (am achten Tage 0,130 Proz.) abgelöst wurde, welche ihr Maximum am 35. Tage erreichte; hierauf nahm die Hyperglykämie rasch ab und am Todestage (am 38. Tage) war der Zuckergehalt im Blute normal. Beim vierten Meerschweinchen dagegen bestand am zweiten bis dritten Tage eine leichte Hyperglykämie, während die Hypoglykämie sich später entwickelte und bedeutend länger (bis zum 14. Tage) anhielt; von der dritten Woche an entwickelte sich auch bei diesem Meerschweinchen eine Hyperglykämie, die bis zu dem am 33. Tage eingetretenen Tode des Tieres anhielt.

Somit stimmen unsere Resultate mit denen von *Collazo* gewonnenen hinsichtlich der Tatsache, daß der Skorbut von einer mehr oder weniger stark ausgesprochenen Hyperglykämie begleitet ist, völlig überein. Nur nimmt *Collazo* an, daß diese Hyperglykämie auf das im Beginn des Skorbuts zu beobachtende Fallen des Zuckergehaltes im Blute folgt, während wir bei allen unseren Versuchen, sobald der Skorbut sich normal entwickelte und die von *Holst* und *Fröhlich* festgesetzte normale

Frist dauerte, eine Hypoglykämie nicht beobachten konnten, sondern der Übergang zur Skorbutnahrung rief eine Erhöhung des Zuckergehaltes im Blute hervor, die in der Folge immer mehr zunahm.

Allerdings haben wir die Bestimmung des Zuckergehaltes nicht *täglich* ausgeführt, wie dies *Collazo* getan hat; wir glauben jedoch, daß *tägliche*, noch so unbedeutende Blutentnahmen, wie sie für die Bestimmungen nach *Bang* nötig sind, nicht immer ohne Einfluß auf den Organismus der Meerschweinchen bleiben und somit das wahre Skorbutbild entstellen können.

Ganz anders, wenn unter unseren Versuchstieren kleine, schwächliche Meerschweinchen sich befanden, die, sobald sie auf Hafer und gekochtes Wasser gesetzt wurden, rasch an Gewicht abnahmen und rasch eingingen, indem sie nur 10 bis 14 Tage lebten: bei solchen Meerschweinchen rief die avitaminöse Nahrung eine *Hypoglykämie* hervor, die während der ganzen Lebensdauer dieser Tiere bestand, d. h. wir fanden dasselbe, was *Collazo* bei seinem zweiten Meerschweinchen gefunden hat. Als Beispiel für das Gesagte kann das Protokoll folgenden Versuchs dienen, der in unserem Laboratorium von Dr. *V. Kogan* angestellt worden ist[1]):

Tabelle III.
Meerschweinchen, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
4. IX.	420	0,102	Rüben und Hafer
7. IX.	420	0,108	
8. IX.	415		
10. IX.	355	0,073	Hafer (Skorbut)
13. IX.	307	0,072	
17. IX.	260	0,066	
20. IX.			Tot

In fast allen unseren Versuchen (Tabellen I und II, IV bis XVII) nach dem Übergang auf das skorbuterzeugende Futter *fiel das Gewicht die ersten 14 bis 18 Tage entweder gar nicht* oder doch nur sehr langsam und unbedeutend. In Versuchen von *Collazo* nahmen die Meerschweinchen viel rascher an Gewicht ab (schon vom zweiten bis dritten Tage ab).

Ein anderer Unterschied zwischen den von uns und *Collazo* gewonnenen Resultaten besteht im folgenden. In allen unseren Versuchen nämlich *begann die Hyperglykämie, nachdem sie am 9. bis 15. Avitaminosetage ihren Höhepunkt erreicht hatte, abzunehmen und wurde schließlich von einer Hypoglykämie abgelöst*, die für die *letzte Skorbutperiode charakteristisch* ist.

[1]) Siehe *V. Kogan*, Zeitschr. f. ges. exper. Med. 41, 63, 1924.

Bei *Collazo* jedoch zeigten das erste und vierte Meerschweinchen in dem Augenblick, wo sie am Skorbut eingingen, eine Hyperglykämie; dagegen fand bei seinem dritten Meerschweinchen kurz vor dessen Tode auch eine Abnahme der Hyperglykämie statt und der Zuckergehalt im Blute erreichte die Norm. Wahrscheinlich hatte der Skorbut beim ersten und vierten Meerschweinchen seine volle typische Entwicklung nicht erreicht und das Tier war vorzeitig eingegangen. Die vier von *Collazo* mit Meerschweinchen angestellten Versuche lassen keinen endgültigen Schluß über die Ursachen der von uns gewonnenen verschiedenen Resultate zu, um so mehr, als selbst in diesen vier Versuchen keine völlige Übereinstimmung herrscht. Die Tatsache, daß *Collazo* ein anderes Bild der Polyneuritiswirkung auf den Blutzucker fand, als das von uns gefundene Bild der Beeinflussung des Blutzuckers durch Skorbut, läßt sich vielleicht dadurch erklären, daß die Polyneuritis und der Skorbut *verschiedene* Avitaminosen darstellen, die durch das Fehlen verschiedener Vitamine in der Nahrung hervorgerufen werden.

Wenn man die Meerschweinchen *während der Hyperglykämie* wiederum *mit Hafer und Rüben zu füttern* beginnt, so wird ein weiteres Fortschreiten des Skorbuts aufgehalten und die Tiere werden wieder gesund; hierbei *kehrt auch der Zuckergehalt im Blute zur Norm zurück*. Zur Erläuterung des Gesagten mögen die Versuchsprotokolle, die in den Tabellen IV und VI angeführt sind, dienen.

Mithin geht aus den oben beschriebenen Versuchen hervor, daß *beim Übergang zur avitaminösen Nahrung (in der das Vitamin C fehlt) eine Hyperglykämie auftritt, die ihr Maximum durchschnittlich gegen Ende der zweiten Avitaminosewoche erreicht und dann von einer Hypoglykämie abgelöst wird. Diese Hyperglykämie hat im Anfangsstadium des Skorbuts statt,* wo die Meerschweinchen *ihr normales Gewicht bewahren* und die Krankheit äußerlich sich noch durch nichts manifestiert. *Das Auftreten von charakteristischen Skorbutsymptomen fällt mit dem Auftreten der Hypoglykämie zusammen.*

Dürfen wir nun die oben beschriebenen Erscheinungen mit denjenigen Angaben vergleichen, die sich in der Literatur bezüglich des Zuckergehaltes im Blute skorbutkranker Menschen finden? Der Zuckergehalt im Blute skorbutkranker Menschen wurde von *Rolly* und *Oppermann*[1]), *Schumm*, sowie *Hess* und *Killian*[2]) bestimmt und als *normal* befunden. Beim Vergleich dieser Angaben mit dem von uns gefundenen Resultat für den experimentellen Skorbut ist zu berücksichtigen, daß

[1]) *Rolly* und *Oppermann*, diese Zeitschr. **48**, 472, 1913.

[2]) *Hess* und *Killian*, Proc. exper. Biol. a. Med. **16**, 43, 1918; Ber. d. ges. Physiol. 1921, *Hess*, Journ. Amer. Med. Ass. 1919.

Tabelle IV.

Meerschweinchen Nr. 8, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung	Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
18. VI.	390		Rüben, Hafer und Wasser	6. VII.	341		Rüben, Hafer und Wasser
19. VI.	435	0,105		7. VII.	347		
20. VI.	437			8. VII.	353	0,158	
21. VI.	439			9. VII.	345		
22. VI.	433	0,099		10. VII.	345		
23. VI.	425			11. VII.	342	0,106	
24. VI.	420			12. VII.	355		
25. VI.	400	0,094		13. VII.	370		
26. VI.	394		Hafer und Wasser	14. VII.	383	0,085	
27. VI.	390			15. VII.	378		
28. VI.	385			16. VII.	368		
29. VI.	390	0,119		17. VII.	375	0,103	
30. VI.	385			18. VII.	390		
1. VII.	350			19. VII.	388	0,105	Getötet
2. VII.	345	0,210					
3. VII.	352						
4. VII.	350						
5. VII.	345	0,212					

Sektionsprotokoll: Alle Organe normal. *Glykogenbestimmung* in der Leber $= 5{,}2$ Proz. Bestimmung der *Amylase im Blut* $= D\frac{38^0}{1\text{h}} = 64{,}5$.

die Skorbutkranken sich erst dann an den Arzt wenden, wenn sie bereits klinisch deutliche Skorbutsymptome aufweisen. Bei den Meerschweinchen treten analoge Erscheinungen nicht früher als am Ende der dritten Woche auf, d. h. zu einer Zeit, wo der Zuckergehalt im Blute bereits wieder herabgesetzt ist und der Norm nahe steht. Es ist daher durchaus wahrscheinlich, daß auch bei den Menschen, wenn ihr Blut in der ersten „latenten" Skorbutperiode, wo die Krankheit *äußerlich* noch fast gar nicht in Erscheinung tritt, untersucht worden wäre, eine ebensolche Hyperglykämie gefunden worden wäre wie bei unseren skorbutischen Meerschweinchen.

2. Blutamylase.

Zur Aufklärung der Einwirkung des Skorbuts auf den Amylasegehalt des Blutes wurden die Meerschweinchen zu verschiedenen Zeitpunkten der Skorbuterkrankung getötet und der Amylasegehalt in ihrem Blute bestimmt.

Diese Untersuchungen zeigten, daß *die Veränderung des Amylasegehaltes im Blute parallel verläuft derjenigen des Zuckergehaltes.*

Die Bestimmungen zeigten (vgl. Tabellen II, V, IX, X, XII, XVIII), daß wir bei normaler Nahrung für die Blutamylase im Durchschnitt

Tabelle V.

Meerschweinchen Nr. 13, männlich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
2. VII.	875		Normal
3. VII.	878	0,104	
4. VII.	884		
5. VII.	860	0,098	
6. VII.	833		
7. VII.	830	0,106	Skorbut erzeugendes Futter (Skorbut)
8. VII.	830		
9. VII.	828		
10. VII.	827	0,114	
11. VII.	808		
12. VII.	825		
13. VII.	828	0,151	
14. VII.	840		
15. VII.	835		
16. VII.	830	0,187	
17. VII.	837		
18. VII.	845		
19. VII.	838	0,158	
26. VII.	827	0,094	
27. VII.	828		
28. VII.	813		
29. VII.	790	0,078	
30. VII.	770		
31. VII.	760		
1. VIII.	735	0,045	
2. VIII.	712		
3. VIII.	696		
4. VIII.	660	0,037	Getötet

Meerschweinchen wurde am 29. Tage des Skorbuts durch Herauslassen von Blut aus der Art. carotis getötet.

Sektionsbefund. Blutergüsse ins Zahnfleisch, in beide Kniegelenke, sowie an den Ansatzstellen der Rippen an die Rippenknorpel. Backzähne lose und lassen sich leicht mit der Pinzette aus den Alveolen entfernen.

Glykogenbestimmung in der Leber. Lebergewicht = 18,97 g. Glykogengehalt = Spuren.

Amylasebestimmung im Blut = $D\frac{38^0}{1^h} = 2$.

die Zahl $D\frac{38^0}{1^h} = 32$ finden. Beim Auftreten des Skorbuts wurde der Amylasegehalt erhöht und erreichte (zur Zeit des maximalen Zuckergehaltes im Blute) $D\frac{38^0}{1^h} = 500$. In der zweiten Skorbutperiode, wo eine starke Herabsetzung des Blutzuckers und eine starke Gewichtsabnahme stattgefunden hatte, fiel kurz vor dem Tode des Tieres der Amylasegehalt auf $D = 4$, und manchmal war überhaupt eine Blutamylase nicht festzustellen.

Tabelle VI.

Meerschweinchen Nr. 7, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
18. VI.	381		Normal ernährt
19. VI.	416	0,099	
20. VI.	419		
21. VI.	407		
22. VI.	398	0,101	
23. VI.	415		
24. VI.	418		
25. VI.	394	0,100	
26. VI.	403		Hafer (Skorbut)
27. VI.	398		
28. VI.	395		
29. VI.	400	0,126	
30. VI.	398		
1. VII.	403		
2. VII.	385	0,125	
3. VII.	377		
4. VII.	360		
5. VII.	352	0,189	
6. VII.	354		Normalnahrung
7. VII.	351		
8. VII.	350	0,150	
9. VII.	340		
10. VII.	344		
11. VII.	328	0,100	
12. VII.	311		
13. VII.	310	0,084	
14. VII.			Getötet

Sektionsbefund. Backzähne lose; Leber: fettige Degeneration; Dünn- und Dickdarm stark hyperämisch.

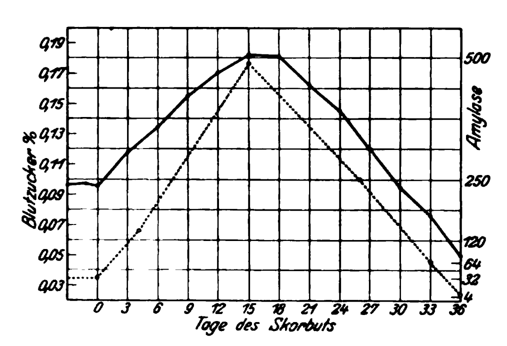


Abb. 1. Die Kurven stellen den *Zuckergehalt* (obere Kurve) und den *Amylasegehalt* (untere Kurve) im Blute der Meerschweinchen beim experimentellen Skorbut dar. Links auf der vertikalen Achse ist der Glykosegehalt in Prozenten, rechts der Amylasegehalt nach *Wohlgemuth* angegeben.

Auf der Kurve ist die Einwirkung des Skorbuts auf den Zucker und die Amylase des Blutes dargestellt. Die Zuckerkurve ist auf Grund

Tabelle VII.

Meerschweinchen Nr. 17, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Harn	Nahrung
19. II.	465			Rüben, Hafer
20. II.	460			
21. II.	460	0,127	*Trommer*sche und	
22. II.	460		Gärprobe negativ	
23. II.	470	0,120	*Trommer* negativ	
24. II.	465			
25. II.	470		" "	
26. II.	475	0,125		
27. II.	470		" "	Hafer (Skorbut)
28. II.	450			
1. III.	450	0,138	*Trommer, Nylander*	
2. III.	453		negativ	
3. III.	445		*Trommer* negativ	
4. III.	445	0,146		
5. III.	435		" "	
6. III.	435			
7. III.	420	0,159		
8. III.	425			
9. III.	410			
10. III.	415			
11. III.	405	0,177	*Trommer*, Gärprobe	
12. III.	400		negativ	
13. III.	400			
14. III.	415	0,152	*Trommer, Nylander*	
15. III.	385		negativ	
16. III.	345	0,111		
17. III.				Getötet

Sektionsbefund. Blutergüsse an den Rippenenden; Backzähne lose.

von im Versuch 3 (Tabelle I) gewonnenen Resultaten gezeichnet, während die Amylasekurve eine schematisierte Kurve des Amylasegehaltes im Blute darstellt, die auf Grund von in einer ganzen Reihe von Versuchen gewonnenen Resultaten angefertigt worden ist.

8. Das Glykogen der Leber.

Die Bestimmung des Glykogengehaltes in der Leber normaler und skorbutischer Meerschweinchen zeigte, daß auch die Glykogenfunktion beim Fehlen des antiskorbutischen Vitamins C in der Nahrung bestimmte Veränderungen erfährt. In der Norm (s. Tabelle XVIII) schwankte der Glykogengehalt der Leber zwischen 4 und 7 Proz. *Beim Skorbut fiel der Glykogengehalt der Leber* (mit verschiedener Geschwindigkeit bei den verschiedenen Tieren, s. Tabellen IX, X, XI, XII und XVIII), *und am Ende des Skorbuts konnte man nur noch Spuren von Glykogen finden oder letzteres war überhaupt nicht nachweisbar* (siehe Tabellen I, II, V und XVIII).

Diese Resultate stimmen mit den von *Collazo*[1]) gewonnenen völlig überein, der festgestellt hat, daß beim Skorbut (sowie bei den anderen Formen der Avitaminose) das Glykogen sowohl aus der Leber als auch aus den Muskeln verschwindet.

Tabelle VIII.
Meerschweinchen Nr. 15, männlich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Harnzucker	Nahrung
1. XI.	350			Rüben u. Hafer
2. XI.	335		—	
3. XI.	350		—	
4. XI.	370	0,100	—	Hafer (Skorbut)
5. XI.	348			
6. XI.	345		—	
7 XI.	340			
8. XI.	342		—	
9. XI.	330			
10. XI.	320		—	
11. XI.	315		—	
12. XI.	305		—	
13. XI.	295		—	
14. XI.	280			
15. XI.	265	0,165	—	
16. XI.	250		—	
17. XI.	245			
18. XI.	235		—	
19. XI.	230		—	
20. XI.	215		—	

Tabelle IX.
Meerschweinchen Nr. 6, männlich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
2. VII.	655		Rüben u. Hafer
3. VII.	678	0,103	
4. VII.	670		
5. VII.	652	0,099	
6. VII.	650		
7. VII.	635		Hafer (Skorbut)
8. VII.	632	0,107	
9. VII.	612		
10. VII.	607		
11. VII.	595	0,149	
12. VII.	599		
13. VII.	585	0,155	Getötet

Meerschweinchen wurde am *siebenten Tage* des Skorbuts getötet. Lebergewicht = 19,18 g.

Leberglykogen = 4,28 Proz.

$$\textit{Blutamylase} = D\,\frac{38^0}{1\text{b}} = 125.$$

[1]) *Collazo*, diese Zeitschr. **186**, 20, 1923.

Tabelle X.

Meerschweinchen Nr. 9, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
18. VI.	422		Rüben und Hafer
19. VI.	430	0,114	
20. VI.	417		
21. VI.	419		
22. VI.	410	0,114	
23. VI.	409		
24. VI.	402		
25. VI.	385	0,118	
26. VI.	394		Hafer (Skorbut)
27. VI.	390		
28. VI.	385		
29. VI.	390	0,129	
30. VI.	385		
1. VII.	398		
2. VII.	400	0,229	
3. VII.	408		
4. VII.	411		
5. VII.	415	0,190	
6. VII.	413		
7. VII.	417		
8. VII.	422	0,177	
9. VII.	410		
10. VII.	419	0,158	

Meerschweinchen wurde *am 16. Tage* des Skorbuts getötet.
Glykogengehalt der Leber = 4 Proz.

Blutamylase $= D \frac{38^0}{1^h} = 64{,}5.$

Tabelle XI.

Meerschweinchen Nr. 10, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
18. VIII.	562		Rüben und Hafer
19. VIII.	568	0,097	
20. VIII.	565		
21. VIII.	562		
22. VIII.	552	0,102	
23. VIII.	556		
24. VIII.	548		
25. VIII.	547	0,106	
26. VIII.	499		Hafer (Skorbut)
27. VIII.	500		
28. VIII.	499		
29. VIII.	500	0,124	
30. VIII.	504		
31. VIII.	500	0,140	Getötet

Meerschweinchen Nr. 10 wurde am *siebenten Tage* des Skorbuts getötet.
Glykogengehalt der Leber = 5,6 Proz.

Tabelle XII. Meerschweinchen Nr. 11, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
18. VIII.	459		Rüben und Hafer
19. VIII.	472	0,096	
20. VIII.	469		
21. VIII.	474		
22. VIII.	460	0,100	
23. VIII.	435		
24. VIII.	424		
25. VIII.	415	0,097	
26. VIII.	416		Hafer
27. VIII.	410		
28. VIII.	400		
29. VIII.	390	0,155	
30. VIII.	385		
31. VIII.	378		
1. IX.	373	0,197	
3. IX.	370		
4. IX.	369		
5. IX.	372	0,191	Getötet

Meerschweinchen Nr. 11 wurde am zehnten Tage des Skorbuts getötet. *Glykogengehalt* in der Leber = 5,9 Proz.

Blutamylase $= D\frac{38^0}{1^h} = 500.$

Tabelle XIII. Meerschweinchen Nr. 16, männlich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung	Bemerkungen
14. I.	455		Rüben und Hafer	
15. I.	468			
16. I.	455	0,101		
17. I.	450			
18. I.	460			
19. I.	455	0,098		
20. I.	455			
21. I.	460			
22. I.	450	0,106		
23. I.	450			
24. I.	410		Hafer (Skorbut)	Sehr unruhig
25. I.	410	0,119		Ruhig
26. I.	—			
27. I.	—			
28. I.	—			
29. I.	360	0,143		
30. I.	350			Zittert; kriecht träge
31. I.	345			Kann das rechte hintere Bein nicht bewegen
1. II.	335	0,115		
2. II.	315			
3. II.	300			
4. II.	270			Sehr schwach, fällt auf die Seite
5. II.	—		Tot	

Tabelle XIV.
Meerschweinchen Nr. 1.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
10. V.	—		Rüben und Hafer
11. V.	665	0,099	
12. V.	640		
14. V.	600	0,104	
15. V.	618		
16. V.	630		Hafer (Skorbut)
17. V.	630	0,144	
18. V.	622		
19. V.	630		
20. V.	620	0,158	
21. V.	625		
22. V.	626		
23. V.	629	0,147	
24. V.	622		
25. V.	615		
27. V.	—	0,117	
28. V.	547		
29. V.	520		
30. V.	495	0,098	
31. V.	486		
1. VI.	457		
2. VI.			Tot

Tabelle XV.
Meerschweinchen Nr. 2, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
13. V.	453		Rüben und Hafer
14. V.	457	0,102	
15. V.	425		Hafer
16. V.	426		
17. V.	373 (Abort)		
18. V.	368	0,127	
19. V.	371		
20. V.	373	0,137	
21. V.	363		
22. V.	360		
23. V.	362	0,095	
24. V.	343		
25. V.	330		
26. V.	310		
27. V.	—	0,055	
28. V.	261		
29. V.	241		Getötet

Tabelle XVI.
Meerschweinchen Nr. 4, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
12. V.	453	0,095	Rüben und Hafer
14. V.	460	0,083	
15. V.	410		Hafer (Skorbut)
16. V.	400		
17. V.	402	0,113	
18. V.	374		
19. V.	373		
20. V.	363	0,136	
21. V.	357		
22. V.	347		
23. V.	352	0,098	
24. V.	350		
25. V.	342		
26. V.	319	0,064	
28. V.	272		Tot

Tabelle XVII.
Meerschweinchen Nr. 5, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Blutzucker Proz.	Nahrung
12. V.	379	0,091	Rüben und Hafer
14. V.	395	0,089	
15. V.	365		Hafer (Skorbut)
16. V.	360		
17. V.	355	0,129	
18. V.	347		
19. V.	352		
20. V.	348	0,152	
21. V.	340		
22. V.	339		
23. V.	339		
24. V.	322		
25. V.	330		
26. V.	321		
27. V.	—	0,054	
28. V.	302		
29. V.	286		
30. V.	281	0,038	
31. V.	270		Tot

Aus allem dem geht hervor, daß *der experimentelle Skorbut einen gewissen Einfluß auf den Kohlehydratstoffwechsel ausübt, soweit diese im Zucker- und Amylasegehalt des Blutes, sowie im Glykogengehalt der Leber zum Ausdruck kommen.*

Wie ist nun das beschriebene Bild der Kohlehydratstoffwechselstörung zu erklären?

Wenn man die Theorie von *Bickel* anerkennt, daß beim Fehlen der Vitamine die Zellfähigkeit zur Ausnutzung der Nahrungsstoffe

Tabelle XVIII.
Meerschweinchen Nr. 14, 18 bis 25.

Nr. der Meerschweinchen	An welchem Tage des Skorbuts wurde getötet	Glykogengehalt in der Leber Proz.	Blutamylase $D_{1h}^{38^0}$
18	18	1,003	nicht bestimmt
19	19	1,800	„ „
20	20	0,700	„ „
21	21	Spuren	4
22	25	„	nicht bestimmt
23	Normal	3,5	16
24	„	5,0	32
25	„	7,0	32
14	„	5,75	32

herabgesetzt ist, so kann man annehmen, daß durch das Weglassen des antiskorbutischen Vitamins C aus der Nahrung die Zellfähigkeit zur Assimilation der Kohlehydrate beeinträchtigt wird. Es tritt dann für die Zellen ein Kohlehydrathunger ein. Ihr Bedarf an Kohlehydraten wird nicht gedeckt, was eine überschüssige Umwandlung der vorrätigen Kohlehydrate in Glykose und ein Forttragen derselben durch das Blut zur Folge hat; auf diese Weise kommt es zur Hyperglykämie. Diese Hyperglykämie kann also hier durch dieselben Ursachen bedingt sein, wie auch beim Diabetes, wo der Organismus die Fähigkeit, die Glykose auszunutzen, eingebüßt hat. Zu dieser Zeit tritt auch eine Erhöhung des Amylasegehaltes im Blute auf.

Je länger der Skorbut dauert, um so stärker treten die Funktionsstörungen einer ganzen Reihe von Organen in Erscheinung. Die Kohlehydratvorräte werden erschöpft; sehr wahrscheinlich tritt gleichzeitig eine Abnahme der Fähigkeit ein, Glykose aus Nicht-Kohlehydraten durch Synthese zu bilden, sowie eine Herabsetzung der Leberfähigkeit, die Nahrungskohlehydrate für die Bildung von Glykogen auszunutzen. Das Resultat hiervon ist, daß die im Anfang des Skorbuts aufgetretene starke Hyperglykämie abzunehmen beginnt, um schließlich von einer Hypoglykämie abgelöst zu werden. In dieser Zeit bleibt in der Leber überhaupt kein Glykogen zurück, es bleiben auch keine vorrätigen Kohlehydrate in den anderen Organen und zugleich nimmt die Amylase ab.

In der Literatur findet sich eine ganze Reihe von Angaben über Funktionsstörungen endokriner Drüsen bei den verschiedenen Avitaminosen. Was den experimentellen Skorbut anbelangt, so zeigen die Arbeiten von *Mc Carrison, La Mer* und *Campbell* u. a., daß bei dieser Avitaminose neben der Gewichtszunahme der Nebennieren (von 0,467 auf 0,955 g) gleichzeitig eine Abnahme der Adrenalinmenge in denselben statthat. Vielleicht werden die von uns und *Collazo* beschriebenen

Störungen in den Stoffwechselprozessen eben durch die Funktionsstörungen der endokrinen Drüsen bedingt. Dies aufzuklären, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Zusammenfassung.

1. Beim Übergang zur avitaminösen Nahrung (in der das Vitamin C fehlt) tritt eine Hyperglykämie auf. Diese Hyperglykämie nahm allmählich zu und erreichte ihr Maximum durchschnittlich gegen Ende der zweiten Skorbutwoche, worauf sie wiederum abzunehmen begann, um schließlich von einer Hypoglykämie abgelöst zu werden. Diese Hypoglykämie verstärkte sich mehr und mehr, bis das Tier an Skorbut einging.

2. Die Hyperglykämie hat im Anfangsstadium des Skorbuts statt, wo die Meerschweinchen ihr normales Gewicht bewahren. Das Auftreten von charakteristischen Skorbutsymptomen fällt mit dem Auftreten der Hypoglykämie zusammen.

3. Die Veränderung des Amylasegehaltes im Blute während des Skorbuts verläuft parallel derjenigen des Zuckergehaltes.

4. Beim Skorbut verschwindet das Glykogen aus der Leber und am Ende des Skorbuts war das Glykogen überhaupt nicht nachweisbar.

Eine Mikromethode zur Bestimmung von organischen Substanzen.

Von

M. Bálint und P. Ruszczynski.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik, Charité, Berlin.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

Für unsere geplanten Untersuchungen über die Serumeiweißkörper, insbesondere über die Trennung von Albumin und Globulin, benötigten wir eine Bestimmungsmethode, die nicht auf Stickstoffbestimmung basiert war, da wir $(NH_4)_2SO_4$ für diese Trennung verwenden wollten. Die gravimetrischen Methoden kamen nicht in Betracht, als zu umständlich und zu zeitraubend für unsere Reihenuntersuchungen. Die physikalischen Methoden (Refraktometrie, Nephelometrie usw.) wollten wir nicht anwenden, weil wir befürchteten, daß die hohen Salzkonzentrationen die physikalischen Konstanten störend beeinflussen würden. Auch die Bestimmung des Kohlenstoffs auf nassem Wege [z. B. nach *W. Stepp* (1)] erschien uns trotz ihrer Exaktheit zu schwerfällig. So bestand die Notwendigkeit, eine Methode auf anderer Basis auszuarbeiten. Als geeignet fand sich die Kaliumpermanganatmethode, die schon seit langer Zeit für ähnliche Zwecke (für die Bestimmung von organischer Substanz im Trinkwasser) mit gutem Erfolg gebraucht wurde. Dieses Verfahren haben wir für unsere Zwecke umgearbeitet.

Wir hielten uns dabei im großen und ganzen an die Vorschrift von *L. W. Winkler* (2), welcher die Oxydation in alkalischer Lösung bei Zimmertemperatur vornehmen läßt. Seine Begründung können wir in allen Punkten bestätigen: Die Oxydation ist intensiver und gleichmäßiger in alkalischem Medium, und die Chloride wirken nicht störend. Noch eins können wir hinzufügen. Es gelang uns, in einer reinen Alaninlösung nach der Oxydation in saurer Lösung Salpetersäure in wechselnder Menge nachzuweisen, dagegen nicht in alkalischer. Statt dessen trat aber hier, und zwar kurze Zeit nach dem Zusammengießen ein sehr deutlicher Geruch nach NH_3 auf. Wir möchten also die Begründung von *L. W. Winkler* folgendermaßen erweitern: In alkalischer Lösung werden die Aminogruppen schon früh abgespalten und so der Oxydation entzogen; in saurer Lösung dagegen werden auch die eventuell abgespaltenen eben durch die Säure wieder gebunden. Es ist genügend bekannt, daß durch energische Mittel NH_4-Ionen zu NO_3-Ionen oxydiert werden können, aber diese Reaktion ist sehr launisch, und schon minimale Änderungen des Milieus beeinflussen ihren Verlauf in hohem Grade, verursachen also einen nicht in Rechnung zu stellenden Verbrauch an Oxydationsmitteln.

Gebraucht wurden folgende Lösungen:

1. Etwa n/20 alkalische Kaliumpermanganatlösung, hergestellt durch Auflösen von 100 g $NaOH$ puriss. in 500 ccm Wasser, Abkühlenlassen der Lösung, Zusatz von 1,58 g $KMnO_4$ und Auffüllen auf 1 Liter. Die Lösung hält sich vorzüglich. Aus ihr haben wir durch Verdünnung von 1 : 5 unsere nicht lange haltbare, n/100 Gebrauchslösung in der jeweils notwendigen Menge hergestellt.
2. 1 : 6 verdünnte H_2SO_4.
3. 3proz. JK-Lösung.
4. n/100 $Na_2S_2O_3$-Lösung. Den Titer dieser Natriumthiosulfatlösung haben wir gegen eine n/10 Kaliumbijodatlösung gestellt.
5. Stärkelösung.

Unser Verfahren ist folgendes: Wir pipettieren an einem Tage 20 ccm der etwa n/100 $KMnO_4$-Lösung und die zu bestimmende Substanz zusammen, lassen die Probe über Nacht in einem bedeckten Erlenmeyerkolben bei Zimmertemperatur stehen und säuern am anderen Tage mit 10 ccm H_2SO_4-Lösung an. Eine Stunde nach dem Ansäuern werden 2 ccm JK-Lösung zugegossen, schnell umgeschwenkt und nach etwa einer halben Minute mit n/100 $Na_2S_2O_3$ das ausgeschiedene Jod unter Zusatz von Stärke titriert. Zu jedem Versuch gehören Gläser, in denen nur $KMnO_4$ ohne reduzierende Substanz angesetzt wird. Den Unterschied zwischen dem „Hauptversuch" und dem ebenso behandelten „Leerversuch" nennen wir „Verbrauch". Die Menge der organischen Substanz ist so zu wählen, daß durch sie weniger als ein Drittel des Permanganats reduziert wird. Diese Menge ist etwa 1 ccm 1 : 100 verdünntes Serum für 20 ccm n/100 $KMnO_4$.

Tabelle I.

Einfluß der Zeit nach dem Ansäuern.

Zeit nach dem Ansäuern Minuten	Hauptversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Leerversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Verbrauch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$
10	12,00	15,30	3,30
20	11,97		3,33
30	11,90		3,40
45	11,82		3,48
60	11,74	15,31	3,56
75	11,72		3,58
90	11,72	15,30	3,58
105	11,71		3,59
120	11,72	15,29	3,58
150	11,68		3,62
180	11,45	15,30	3,85

Es wurden angesetzt 20 ccm $KMnO_4$ und 1 ccm 1 : 100 verdünntes Serum, das Gemisch 18 Stunden stehengelassen, 10 ccm 1 : 6 verdünnter H_2SO_4 zugesetzt und in verschiedenen Zeitabständen titriert.

Daraus ersieht man, daß die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter von 0 bis 60 Minuten stetig steigen, von 60 bis 120 Minuten konstant bleiben und von 120 Minuten wiederum ansteigen. Deshalb haben wir bei allen unseren Versuchen erst 1 Stunde nach dem Ansäuern mit der Titration begonnen und sie vor Ablauf der zweiten Stunde beendet.

Tabelle II.

Einfluß der Zeit vor dem Ansäuern.

Zeit vor dem Ansäuern Stunden	Hauptversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Leerversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Verbrauch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$
15	17,42	22,36	4,94
19	17,34		5,02
20	17,27		5,09
24	17,15		5,21
27	16,97	22,36	5,39
28	16,98		5,38
30	16,97		5,39
39	16,88	22,36	5,48
41	16,86		5,50
46	16,73		5,63
48	16,62	22,36	5,74

Angesetzt 20 ccm $KMnO_4$ und 1 ccm 1 : 100 verdünntes Serum. Die Gläser wurden verschieden lange stehengelassen, dann mit 10 ccm 1 : 6 verdünnter H_2SO_4 angesäuert und nach 1 Stunde titriert.

Es wird ersichtlich, daß die Oxydation innerhalb der ersten 48 Stunden noch nicht beendigt ist. Es konnte also hieraus kein bestimmter Zeitpunkt festgestellt werden, wann der Versuch als abgeschlossen betrachtet werden kann. Aus praktischen Gründen sind wir übereingekommen, die Oxydation für unsere Zwecke nach 18 bis 20 Stunden durch die Ansäuerung zu unterbrechen.

Tabelle III.

Einfluß der Konzentration des Kaliumpermanganats.

Leerversuch, zugleich Konzentration der $KMnO_4$-Lösung ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Hauptversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Verbrauch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$
16,20	13,42	2,78
24,05	21,14	2,91
31,84	29,15	2,69

Zu 20 ccm verschieden konzentrierter $KMnO_4$-Lösungen wurden die gleichen Mengen 1 : 100 verdünntes Serum zugesetzt, 20 Stunden stehengelassen, angesäuert und 1 Stunde später titriert.

Tabelle IV.

Einfluß der Konzentration der organischen Substanz.

ccm Serum 1 : 100 verdünnt	Hauptversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Leerversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Verbrauch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Korr. u. Umrechnung auf 1,0 ccm
1,0	11,39	14,51	3,12	3,08
0,8	11,71		2,80	3,47
0,6	12,28		2,23	3,69
0,5	12,56		1,95	3,88
0,4	12,88		1,63	4,05
0,2	13,66		0,85	4,20

Zu 20 cm $KMnO_4$-Lösungen wurden verschiedene Mengen 1 : 100 verdünntes Serum zugesetzt, 20 Stunden stehengelassen, angesäuert und 1 Stunde später titriert.

Aus diesen beiden Versuchsreihen (III und IV) ersieht man, daß die verbrauchte Anzahl Kubikzentimeter n/100 Oxygen weder der absoluten Menge organischer Substanz, noch der des Kaliumpermanganats proportional ist, sondern eine viel kompliziertere, aber doch eindeutig wachsende Funktion beider darstellt. Trotz vieler. dahingehender Versuche konnten wir bisher der Methode keine solche Gestalt geben, daß sie einwandfreie quantitative Schlüsse zuließ. Diese Einschränkung will sagen, daß wir nicht angeben können, wieviel organische Substanz in der Lösung war, andererseits jedoch eindeutig feststellen können, ob in einer zweiten Lösung ebensoviel vorhanden ist oder ob mehr oder weniger. Es ist uns sogar möglich, nicht die Richtung allein, sondern bis zu einem gewissen Grade auch die Größenordnung der Unterschiede festzustellen, besonders bei Anwendung des Kunstgriffes, aus der verdünnteren Lösung entsprechend mehr zu nehmen, so daß die Ausschläge der beiden Proben ungefähr gleich groß sind. Auf diese Art würde es uns möglich, bis zu einem gewissen Grade quantitative Schlüsse aus den Ausschlägen zu ziehen.

Über die Anwendung der Methode auf die Ausfällung der Serumeiweißkörper berichtet die folgende Arbeit. Außerdem wurde von *M. Bálint* und *E. Littauer* die Methode auf das Studium des Bakterienwachstums angewandt, wobei sie fanden, daß in einer konzentrierten Bouillon mehr Bakterien wuchsen als in einer weniger konzentrierten, und daß die Abnahme der Nährstoffe, gemessen durch die Reduktionskraft der Nährflüssigkeit vor und nach der Bebrütung, mit dem Wachstum parallel ging.

Literatur.

1) *W. Stepp*, Ergebn. d. Physiol. **19**. — 2) *L. W. Winkler* in Lunge-Berl, Chem. techn. Untersuchungsmethoden, 7. Aufl., 1, 497ff. Berlin 1921.

Die Fällungskurve der Serumeiweißkörper[1].

Von

Paul Ruszczynski.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 4. September 1924.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

In der Literatur über die Struktur der Eiweißkörper stehen sich noch zwei Ansichten gegenüber. Die eine Richtung spricht sich in ihren Arbeiten für eine weitgehende Differenzierung der Serumeiweißkörper aus, während die andere an ihrer einheitlichen Natur festhält. Und dies, obwohl in der letzten Zeit seit den Untersuchungen von *Obermeyer* und *Willheim*, *L. Michaelis*, *Ruppel* und seiner Mitarbeiter die Zweiteilung gesichert schien. Aber alle diese Autoren benutzten weitgehend gereinigte Substanzen, so daß immer der Einwand erhoben werden konnte, daß durch eben diese weitgehende Reinigung gerade die entscheidenden Zwischenglieder ausgefallen sind.

Deshalb wollte ich mit einer solchen Versuchsanordnung arbeiten, die eine direkte Antwort ermöglicht auf die Frage: Gibt es eine scharfe Trennung im Serum zwischen Globulin und Albumin? Die erste wissenschaftlich brauchbare Definition des Albumins und Globulins stammt von *Hofmeister* auf Grund ihres verschiedenen Verhaltens dem Ammoniumsulfat gegenüber. Da bisher keine bessere Definition vorgeschlagen wurde, schien es mir zur endgültigen Beantwortung obiger Frage als unerläßlich, die Untersuchungen mit $(NH_4)_2SO_4$ auszuführen. Es hat dieses Salz noch den Vorteil, daß man mit seiner Hilfe in die Struktur der Albuminfraktion Einsicht bekommen kann, da sein Fällungsvermögen sich nicht bereits mit der Abscheidung der Globuline erschöpft, so daß gerade die besonders interessierende Globulin-Albumingrenze in den Mittelpunkt der Untersuchungen gestellt werden konnte.

Das Bestreben meiner Untersuchungen ging also dahin, festzustellen, ob bei fortlaufend steigender $(NH_4)_2SO_4$-Sättigung eine Zone eintritt, wo die Zunahme der Sättigung keine weitere Fällung verursacht. Als quantitative Wertung des Niederschlages, wie sie die Arbeit verlangte, wird in der Literatur das gefällte Eiweiß gravimetrisch oder sein Stickstoffgehalt nach *Kjeldahl* bestimmt. Aus den bereits mit-

[1]) Auszug aus einer Dissertation, Berlin 1924.

geteilten Gründen (s. vorige Arbeit) mußte ich auf sie verzichten. Die Verfolgung der Ausfällung geschah mit Hilfe der von *M. Bálint* und mir modifizierten Permanganatmethode.

Zur fraktionierten Salzfällung mit $(NH_4)_2SO_4$ verwandte ich die von *Hofmeister* und *Pohl* vorgeschlagene Methode. 1 ccm klares, frisches Serum wurde in Zentrifugiergläsern mit Aqua dest. verdünnt und mit steigenden Mengen kalt gesättigtem $(NH_4)_2SO_4$ gefällt, so daß schließlich das Endvolumen in allen Gläsern 10 ccm betrug. Der Sättigungsgrad in den einzelnen Gläsern war ein gestaffelter mit dem Anfangswerte 30 Proz. und dem Endwerte 75 Proz. Sättigung. Der Unterschied zwischen je zwei aufeinanderfolgenden Gläsern betrug 5 Proz. Sättigung. In einigen Versuchen wurde dieser Abstand verkleinert. Den Anlaß für die Festsetzung dieser Sättigungsgrenzen bildeten einige Vorversuche. Es ergab sich, daß weniger als 30 Proz. zwar eine sichtbare, aber durch unsere Methode nicht nachweisbare Fällung hervorrief, und daß mehr als 75 Proz. $(NH_4)_2SO_4$-Sättigung infolge der hohen Salzkonzentration störend bei der quantitativen Bestimmung mit $KMnO_4$ wirkte. Das Intervall von 5 Proz. Sättigung fand sich am vorteilhaftesten, da es genügend große Unterschiede bei der Titration verbürgte.

1 Stunde nach dem Ansetzen wurde das Serum-Salzwassergemisch zentrifugiert bis zur völligen Klarheit des Filtrats. Ich habe nun das Reduktionsvermögen des Filtrats gegen Permanganat untersucht, um dadurch die Konzentration des in Lösung gebliebenen Resteiweißes zu bestimmen. Zu diesem Zwecke wurde von dem im Verhältnis zum ursprünglichen Serum 1 : 10 verdünnten Zentrifugat entsprechend der Eiweißkonzentration immer ein bestimmter Bruchteil von 1 ccm angesetzt, und zwar 0,1 ccm bis 40 Proz. Sättigung, 0,2 ccm bis 70 Proz. Sättigung und 0,3 ccm bis 75 Proz. Sättigung. Alle Zumessungen geschahen mit ausgewogenen Instrumenten.

Mit den bei der Titration erhaltenen Ausschlägen war es nicht so einfach. Sie als absolute Werte einzutragen. hatte keinen Sinn, da für ihre Größe nebensächliche Umstände, wie Permanganatkonzentration, Dauer der Oxydation usw. mitbestimmend waren. Obwohl ich nun weiß, daß keine genaue Proportionalität zwischen ihnen besteht, habe ich sie doch als Notbehelf ausgedrückt als Prozente, bezogen auf den Ausschlag als Einheit, den 1 ccm 1 : 100 verdünntes Serum unter den gleichen Bedingungen ergab.

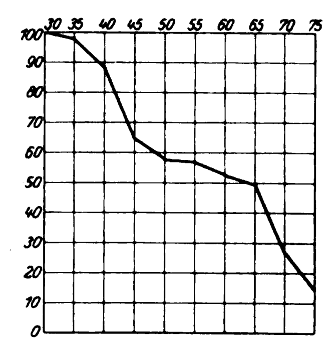


Abb. 1. Tabelle I.

Die Ergebnisse der Reihenversuche habe ich graphisch dargestellt. Als Abszissen wurden die Sättigungsgrade eingetragen, als Ordinaten die so berechneten Prozente. Bei der Verbindung der aufgetragenen Punkte ergibt sich eine Kurve, die ich „Fällungskurve“ nenne.

Versuche von Menschenserum.

Tabelle I.

Proz. der Sättigung	Hauptversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Leerversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Verbrauch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Korrigierte Werte	Proz. bezogen auf 1,0 ccm 1 : 100 verdünntes Serum
0	13,48	17,51	4,03	4,08	100
30	13,48		4,03	4,13	101
35	13,61		3,90	4,00	98,0
40	13,97		3,54	3,63	89,0
45	12,39		5,12	2,66	65,3
50	12,58		4,93	2,47	58,2
55	12,85		4,66	2,33	57,2
60	13,18		4,33	2,17	53,2
65	13,50		4,01	2,01	49,3
70	15,32		2,19	1,09	26,8
75	15,54		1,97	0,59	14,0

Menschenserum bei endokriner Störung. Angesetzt 20 ccm $KMnO_4$; dazu kam als Einheit in ein Doppelglas 1 ccm 1: 100 verdünntes Serum (= 0). Die übrigen Gläser wurden beschickt mit:

0,1 ccm des Filtrats bei Sättigung 30 bis 40 Proz.
0,2 „ „ „ „ „ 45 „ 70 „
0,3 „ „ „ „ „ 75 Proz.

Der Versuch blieb 20 Stunden stehen, wurde dann mit 1 : 6 verdünnter H_2SO_4 angesäuert und nach 1 Stunde jodometrisch titriert.

Tabelle II.

Proz. der Sättigung	Hauptversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Leerversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Verbrauch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Korrigierte Werte	Proz. bezogen auf 1,0 ccm 1 : 100 verdünntes Serum
0	15,68	20,02	4,34	4,39	100
30	15,55		4,47	4,43	101
35	15,81		4,21	4,17	95,2
40	16,19		3,83	3,79	88,8
45	14,37		5,65	2,80	63,8
50	14,84		5,18	2,57	58,6
55	14,98		5,02	2,49	56,8
60	15,31		4,71	2,34	53,4
65	16,04		3,98	1,98	45,2
70	18,88		1,14	0,57	13,0
75	18,52		1,50	0,49	11,2

Versuchsanordnung wie bei dem vorhergehenden Versuche. Menschenserum bei Aneurysma aortae.

Die Durchschnittsgestalt der Kurve bei Menschenserum ist ungefähr die folgende. Wie vorher erwähnt, konnte ich keine nennenswerte Ausfällung bis zu 30 Proz. Sättigung feststellen. Sie beginnt dort mit einem leicht abfallenden Verlauf bis zu 40 Proz. Sättigung. Hier wird sie sehr steil bis 45 Proz., wo sie wiederum fast horizontal

Tabelle III.

Proz. der Sättigung	Hauptversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Leerversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Verbrauch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Korrigierte Werte	Proz. bezogen auf 1,0 ccm 1 : 100 verdünntes Serum
0	15,24	18,83	4,59	4,64	100
30	15,10		4,73	4,68	102
35	15,39		4,44	4,40	95,0
40	15,48		4,35	4,31	93,2
45	14,21		5,62	2,79	60,2
50	14,68		5,15	2,56	55,7
55	14,70		5,13	2,54	54,9
60	15,36		4,47	2,23	48,2
65	16,80		3,03	1,50	32,4
70	17,92		1,91	0,95	20,4
75	17,68		2,15	0,71	15,3

Versuchsanordnung wie bei den vorigen Versuchen. Menschenserum bei Schrumpfniere.

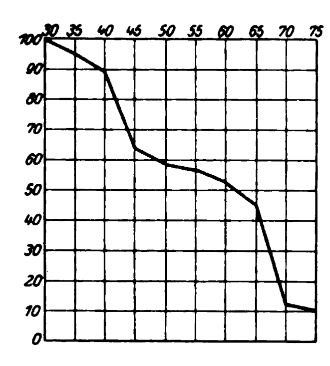


Abb. 2. Tabelle II.



Abb. 3. Tabelle III.

Tabelle IV.

Proz. der Sättigung	Hauptversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Leerversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Verbrauch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Korrigierte Werte	Proz. bezogen auf 1,0 ccm 1 : 100 verdünntes Serum
0	14,15	18,11	3,96	4,01	100
30	14,18		3,93	4,04	100,8
35	14,38		3,73	3,83	95,5
40	14,59		3,52	3,62	90,2
45	13,03		5,08	2,54	63,4
50	13,05		5,06	2,53	63,1
55	13,04		5,07	2,53	63,1
60	13,73		4,38	2,19	54,6
65	14,70		3,41	1,70	42,4
70	16,07		2,04	1,02	25,4
75	16,47		1,64	0,54	13,5

Versuchsanordnung wie bei den vorigen Versuchen.. Menschenserum bei Gesundem.

umbiegt. Nunmehr verläuft die Kurve in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle leicht abfallend bis etwa 55 Proz. Sättigung, wo sie steiler wird, dann weiter bis 65 Proz.; wo ein ganz steiler Abfall stattfindet. Höher als bis zu 75 Proz. Sättigung konnte die Ausfällung nicht verfolgt werden. In manchen Fällen hatte es den Anschein, als ob in der Nähe von 75 Proz. noch ein Inversionspunkt der Kurve liege. Jedoch stelle ich diese Behauptung nur mit Vorbehalt. In einigen Fällen beginnt die zweite steile Portion der Kurve schon bei 55 Proz. Sättigung. Es fehlt dann der große Knick bei 65 Proz. Sättigung, die Kurve verläuft also von 55 bis 75 Proz. Sättigung fast geradlinig. In anderen Fällen konnte ich den absoluten Stillstand zwischen 45 und 55 Proz. Sättigung feststellen. Diese Beobachtung betraf nur Menschenserum, und zwar 5 von 21 Sera (ein Gesunder, zwei Herz-, zwei Nierenkranke).

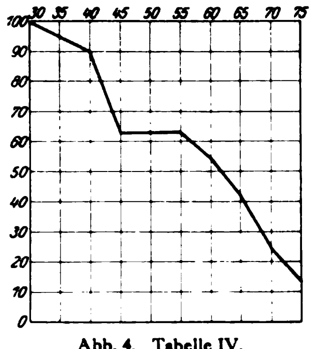


Abb. 4. Tabelle IV.

Man kann im allgemeinen also sagen, daß die Kurve aus fünf Stücken besteht. Drei davon verlaufen fast parallel der Abszisse. Das sind die Teilfraktionen von 30 bis 40 Proz., von 45 bis 65 Proz. (55 Proz.) und wahrscheinlich jenseits von 75 Proz. Sättigung. Im Bereiche dieser Salzkonzentrationen fällt ein deutlich geringer Teil der Eiweißkörper aus, besonders möchte ich dies für 45 bis 55 Proz. Sättigung betonen.

Außerdem konnte die bekannte Beobachtung bestätigt werden, daß der Zusatz von 0,1 ccm gesättigter $(NH_4)_2SO_4$ in dem klaren Filtrat der Fraktion 40 Proz. Sättigung eine Trübung hervorruft, die bei 45 Proz. nicht mehr deutlich sichtbar, bei 50 Proz. fehlt. Hier vermag also diese geringe Konzentrationserhöhung nicht mehr fällend zu wirken. Nach den Versuchen von *Hofmeister* liegt an dieser Stelle der Punkt, an dem quantitativ das Globulin vom Albumin als Niederschlag getrennt werden sollte. Später wurde von *Hofmeister* und anderen Autoren die Beobachtung gemacht, daß im Anschluß an die Halbsättigung, also zwischen dem Salzzusatz, der zur vollständigen Ausfällung der Globuline genügt und jenem, der eine weitere Fällung einleitet, ein breiter Spielraum, eine ausfallfreie Zone liegt. Ich muß aber hierzu bemerken, daß ein absoluter Stillstand der Ausfällung nur in vereinzelten Fällen stattfindet, d. h. die beiden großen Fraktionen sind im allgemeinen durch ihre Ausfällungsgrenzen gut charakterisiert, doch sind in den meisten Fällen Zwischenglieder vorhanden.

Die restlichen zwei Stücke dieser fünfgliedrigen Kurve verlaufen steil, was so viel bedeutet, daß innerhalb der Zonen 40 bis 45 bzw. 65 bis 70 Proz. Sättigung die Hauptmengen der Globulin- bzw. der Albuminfraktion ausfallen.

Versuch von Pferdeserum.

Proz. der Sättigung	Hauptversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Leerversuch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Verbrauch ccm n/100 $Na_2S_2O_3$	Korrigierte Werte	Proz. bezogen auf 1,0 ccm 1 : 100 verdünntes Serum
0	17,38	22,47	5,09	5,03	100
30	17,27		5,20	5,22	102
35	17,91		4,56	4,59	91,3
40	18,33		4,14	4,17	83,0
45	16,99		5,48	2,77	63,0
50	17,38		5,09	3,16	55,2
55	17,77		4,70	2,36	45,0
60	18,15		4,22	2,12	42,2
65	19,32		3,15	1,58	31,2
70	21,32		1,15	0,58	11,5
75	21,53		0,94	0,48	9,5

Versuchsanordnung wie bei den Versuchen mit Menschenserum.

Bei Pferdeserum zeigt die Kurve keine ausgesprochene Gliederung. Sie verläuft vielmehr leicht geneigt, wobei nur ein etwas steileres Gefälle zwischen 40 bis 45 bzw. 65 bis 70 Proz. Sättigung auftritt; dagegen findet sich kein horizontales Stück.

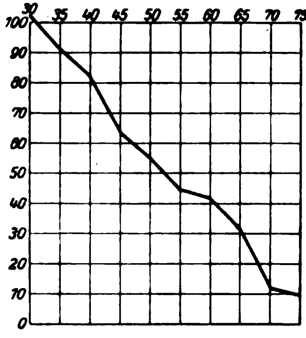


Abb. 5. Tabelle V.

Schließlich wäre noch als eine weitere Beobachtung das Verhalten des Serumfarbstoffs zu verzeichnen. Es trat bei 65 Proz. Sättigung eine Aufhellung ein, die von Glas zu Glas zunahm, so daß bei 70 Proz. Sättigung das Filtrat wasserfarben aussah.

Die Mengenverhältnisse der Fraktionen kann ich nur schätzungsweise angeben, was einer Genauigkeit von 5 Proz. entspricht, da, wie oben angegeben, die Methode streng quantitative Bestimmungen nicht zuläßt. Bis zu 40 Proz. Sättigung fallen 10 bis 15 Proz., bis 45 Proz. Sättigung etwa weitere 20 bis 25 Proz., bis 55 Proz. Sättigung etwa 5 Proz., bis 65 Proz. Sättigung etwa 10 Proz. der Serumeiweißkörper aus. Es bleiben bei 75 Proz. Sättigung etwa 15 bis 20 Proz. der Eiweißkörper in Lösung.

Obwohl die Fällungskurve bei der Halbsättigung mit Ammoniumsulfat nur in seltenen Fällen eine ausfallsfreie Zone zeigt, wie es *Hofmeister* als Regel beschrieb, kann man trotzdem aus ihrem Verlauf die Existenz zweier wohlcharakterisierter Fraktionen herauslesen. Diese beiden Fraktionen werden durch Zwischenglieder verbunden, deren Zugehörigkeit durch Konvention definiert, aber nicht aus ihrer Natur heraus zwingend gefordert werden kann.

Dem Leiter des Laboratoriums, Herrn Oberarzt *H. Petow*, möchte ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank für sein immer reges

Interesse und seine uneigennützige wertvolle Unterstützung auszusprechen. Ebenso bin ich zu Dank verpflichtet Herrn *M. Bálint*, und dies ganz besonders für die Überlassung des Themas und seine belehrende, persönliche Leitung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Literatur.

F. Obermeyer und *F. Willheim*, diese Zeitschr. **38**, 50. — *Ruppel* und Mitarbeiter, Zeitschr. f. Hyg. **97**. — *Michaelis* und *Rona*, diese Zeitschr. **27**, **28**. — *Michaelis* und *Davidsohn*, ebendaselbst **30**, 33. — *Pohl*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **20**.

Über Äther von Polysacchariden mit Oxysäuren.

Antwort zu der Bemerkung von *Wilhelm Weltzien*[1]).

Von

R. O. Herzog.

(Eingegangen am 4. September 1924.)

Herr *Y. K. Chowdhury* referiert über Celluloseäther — auf weniger Raum, als die *Weltzien*sche Bemerkung beansprucht — und begeht dabei das Versehen, von einer Trimethylverbindung *Heusers* und *v. Neuensteins* zu sprechen, statt genauer anzugeben, daß nur bis zu 2,5 Methoxylgruppen gebunden werden. Von Bedeutung ist diese Unterlassung um so weniger, als die *Chowdhury*sche Arbeit sich nicht auf Methyläther bezieht, sondern auf die Reaktion zwischen der Molekülverbindung von Cellulose + NaOH mit Chlorfettsäurechloriden. Dieses Versehen wird von Herrn *Weltzien* gerügt, um die Nichterwähnung der Veröffentlichung von *Hess*, *Weltzien* und *Messmer* reklamieren zu können.

Die Erklärung für diese Unterlassung ist einfach: Die Dissertation *Chowdhurys* war im Herbst 1923 abgeschlossen (am 11. November der Berliner Universität überreicht), die Publikation, an der Herr *Weltzien* beteiligt ist, ist am 5. Januar 1924 in Berlin eingetroffen. (Die Veröffentlichung der *Chowdhury*schen Arbeit ist durch Zufälligkeiten um einige Monate verzögert worden.)

Durch die Bemerkung des Herrn *Weltzien* ist weder irgend ein sachlicher Punkt gefördert, noch einer unterdrückten historischen Wahrheit zum Recht verholfen worden.

---

[1]) Diese Zeitschr. 150, 476, 1924. — Da Herr *Y. K. Chowdhury*, aus dessen Doktordissertation die Mitteilung in dieser Zeitschrift (148, 76, 1924) einen Auszug darstellt, vor einiger Zeit in seine indische Heimat gereist ist, gestatte ich mir an seiner Statt zu antworten.

Gemischte Dismutation der Aldehyde. II[1].

Von

R. Nakai.

(Aus dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 6. September 1924.)

Die Umwandlungen der Aldehyde unter der Einwirkung verschiedener Agenzien basischen oder sauren Charakters bildeten bereits den Gegenstand von Untersuchungen, kaum daß man Kenntnisse von der Natur der Aldehyde erlangt hatte.

Gegenwärtig können wir drei Haupttypen dieser Umwandlungen unterscheiden:

a) Polymerisation unter Verdreifachung des Moleküls durch Sauerstoffbindung und Umwandlung in die *Para-* oder die *Meta*form.

b) Zusammentritt unter Verdoppelung der Moleküle durch Kohlenstoffbindung und Umwandlung in Aldole (Benzoine) und weiter in ungesättigte Aldehyde.

c) Umwandlung des Aldehyds durch mittelbare Sauerstoffbindung in den zugehörigen Alkohol und Säure.

Diese letztere Reaktion von *Cannizzaro* war zeitig die erste Umwandlung und hat als Grundlage für eine ganze Reihe weiterer Untersuchungen gedient. — Sie erscheint bisher grundsätzlich in zwei verschiedenen Arten möglich:

1. Als Umwandlung zweier *gleicher* Moleküle Aldehyde im Sinne der Umsetzung:

$$2\,R.COH + HOH = R.CH_2OH + R.COOH \qquad (1)$$

2. Als sogenannte *innere Cannizzarosche Reaktion*, die bei Dialdehyden bzw. ihren Substitutionsprodukten entsprechend der Gleichung:

$$R.CO.COH + HOH = R.CHOH.COOH \qquad (2)$$

verläuft.

[1]) I. Mitteilung: *F. F. Nord*, diese Zeitschr. **106**, 275, 1920.

Die letzterwähnten Arten von Umwandlungen, die uns hier eingehender beschäftigen sollen, sind in der aliphatischen wie aromatischen Reihe wohlbekannt und haben in den letzten Jahren auch erhöhte biologische Bedeutung erlangt. Viele Autoren, wie *Schmiedeberg*[1]), *Jaquet*[2]), *Abelous* und *Biarnès*[3]), *Jacoby*[4]), *Spitzer*[5]) u. a., neigten zu der Annahme, daß die Auffindung von Säuren nach erfolgter Umwandlung von Aldehyden im Organismus durch einfache Oxydation mit Hilfe der Aldehydase zu erklären wäre. Es wurde aber festgestellt, daß die Zufuhr freien Sauerstoffs überflüssig und unter gewissen, von *Medwedew*[6]), *Abelous* und *Aloy*[7]), sowie *Dony-Henault* und *van Duuren*[8]) festgestellten Bedingungen sogar unvorteilhaft war. Eine Erklärung dieser Tatsachen wurde in den Beobachtungen von *Parnas*[9]) bzw. *Battelli* und *Stern*[10])[11]) gefunden, die feststellten, daß die Umwandlung des Aldehyds in Gegenwart tierischen Gewebes keine einseitige ist, vielmehr besteht zwischen den Produkten der Oxydation (Säure) und der Reduktion (Alkohol) eine stöchiometrische Übereinstimmung. Sie sehen in Anlehnung an die an Zellenmaterial experimentell nicht belegte Auffassung von *M. Traube*[12]) in den Ionen des Wassers OH' und H˙ die tätigen Faktoren, die freilich erst in entladenem Zustande ihre Funktion — die Oxydation durch OH, die Sauerstoffhydrierung durch H — erfüllen könnten[13]). Nach den Versuchen von *Wieland*[14]) scheint aber die Korrelation von Oxydation und Reduktion bei biologischen Objekten in den Prozeß der Dehydrierung eingefaßt. Er möchte danach den Verlauf der Reaktion — wenn der Aldehyd selbst als Acceptor des Wasserstoffs seines Hydrats dient — im Sinne des Vorgangs:

$$\mathrm{R{-}C}\begin{cases}\mathrm{OH}\\ \mathrm{OH}\\ \mathrm{H}\end{cases} + \mathrm{O{=}\underset{\displaystyle H}{\underset{|}{C}}{-}R} \longrightarrow \mathrm{R{-}\overset{\displaystyle OH}{\overset{|}{C}}{=}O} + \mathrm{H{-}\overset{\displaystyle HO}{\overset{|}{\underset{\displaystyle H}{\underset{|}{C}}}}{-}R} \qquad (3)$$

betrachtet wissen.

Sodann haben *Neuberg*[15]) sowie *Dakin* und *Dudley*[16]) unabhängig voneinander auch die innere Cannizzarierung in vivo ausgeführt. In beiden Fällen haben wir es mit der Wirkung noch nicht in Substanz isolierter Fermente zu tun.

---

1) *O. Schmiedeberg*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **14**, 288, 306, 1881.
2) *A. Jaquet*, ebendaselbst **29**, 386, 1891.
3) *J. E. Abelous* und *G. Biarnès*, Arch. d. Physiol. **30**, 664, 1898.
4) *M. Jacoby*, H. **30**, 135, 1900.
5) *W. Spitzer*, Pflügers Arch. **67**, 615, 1897.
6) *A. Medwedew*, ebendaselbst **81**, 540, 1900.
7) *J. E. Abelous* und *I. Aloy*, C. r. soc. biol. **55**, 891, 1903.
8) *O. Dony-Henault* und *I. van Duuren*, Bull. Acad. Belge 1907, S. 537.
9) *I. Parnas*, diese Zeitschr. **28**, 274, 1910.
10) *F. Battelli* und *L. Stern*, ebendaselbst **28**, 145; **29**, 130, 1910.
11) Arch. int. d. Phys. **18**, 403, 1921.
12) *M. Traube*, B. **18**, 1890, 1885.
13) *F. Battelli* und *L. Stern*, C. r. soc. biol. **83**, 1544, 1920.
14) *H. Wieland*, B. **47**, 2088, 1914.
15) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **51**, 484, 1913.
16) *H. D. Dakin* und *H. W. Dudley*, Journ. biol. Chem. **14**, 321, 423; **15**, 463; **16**, 505, 1913.

Eine noch wichtigere Rolle spielt die *Cannizzaro*sche Reaktion an den intermediären Vorgängen, die bei der alkoholischen Gärung ablaufen. *Neuberg* und *Kerb*[1]) und später *Kostytschew*[2]) haben darauf hingewiesen, daß die Hefe Acetaldehyd zu dismutieren vermöge, und die von *Neuberg, Hirsch* und *Ursum*[3]) aufgefundene dritte Vergärungsform, bei welcher der Zucker im Sinne der Gleichung:

$$2\,C_6H_{12}O_6 + H_2O = CH_3COOH + C_2H_5OH + 2\,C_3H_8O_3 + 2\,CO_2$$

in Essigsäure, Alkohol, Glycerin und Kohlensäure zerlegt wird, beruht darauf, daß bei alkalischer Reaktion die biologische Dismutation des Zwischenprodukts Acetaldehyd in Essigsäure und Äthylalkohol erfolgt.

Die entwickelte Anschauung zur Erklärung der Umwandlungen, die sich am Zuckermolekül vollziehen müssen, bevor die Stufe des Acetaldehyds bzw. der Brenztraubensäure erreicht wird, stützt sich auf die Möglichkeit[4]) einer gemischten *Cannizzaro*schen Reaktion zwischen zwei *verschiedenen* Aldehyden, entsprechend dem Schema:

$$\begin{matrix} CH_3.CO.COH & & O & & CH_3.CO.COOH \\ & + & \| & = & + \\ CH_3.COH & & H_2 & & CH_3.CH_2OH \end{matrix} \qquad (4)$$

Die bisher erwähnten Untersuchungen, welche sich durchweg auf die *Cannizzaro*sche Reaktion als gegebene Tatsache stützen, haben ihre Bedeutung dargetan, ohne aber über den eigentlichen Reaktionsmechanismus, zum Teil auch nur in hypothetischer Form, Rechenschaft zu geben. Es ist daher durchaus verständlich, daß die Umwandlung von jeher das Interesse der Chemiker erregt hat, zumal die unter (1) angegebene Gleichung nur den Endprodukten Rechnung trägt und die etwaigen Zwischenphasen bzw. Vorgänge vollkommen unberücksichtigt läßt.

Die Erklärungsversuche gehen bis auf *Gerhardt* und *Cahours*[5]) zurück, erscheinen aber mit wenigen Ausnahmen unbefriedigend.

Allein *Claisen*[6]) konnte den Nachweis erbringen, daß bei der Behandlung von 2 Mol. Benzaldehyd mit einer Lösung von Natriummethylat in Methylalkohol als Zwischenprodukt Benzylbenzoat entsteht. Eine Bestätigung haben seine Versuche auch durch *Kohn* und *Trantom*[7]) erhalten, die zu der Überzeugung gelangt sind, daß sie bei ihren Versuchen eine der *Claisen*schen ähnliche Zwischenverbindung, nämlich:

$$C_6H_5C\begin{cases} ONa \\ OH \\ OC_7H_7 \end{cases}$$

in ihren Händen hatten.

Auf Veranlassung und unter Leitung von Herrn *Nord* haben wir an diese Versuche angeknüpft. Sollte es nämlich gelingen, durch Modellversuche in wasserfreiem Medium mit Hilfe von Aluminium- oder Magnesiumalkoholaten an verschiedenen Aldehydgemischen *ge-*

[1]) *C. Neuberg* und *Joh. Kerb*, Zeitschr. f. Gärungsphys. 1, 114, 1912.

[2]) *S. Kostytschew*, H. 79, 361, 1912.

[3]) *C. Neuberg, J. Hirsch, W. Ursum*, diese Zeitschr. **96**, 175; **110**, 193, 1920.

[4]) *A. Harden*, Alcohol. Fermentation, S. 107. London 1923.

[5]) *Ch. F. Gerhardt* und *A. Cahours*, Ann. chim. phys. (3) 1, 81, 1841.

[6]) *L. Claisen*, B. **20**, 649, 1887.

[7]) *Ch. A. Kohn* und *W. Trantom*, Soc. 75, 1155, 1899.

mischte Ester zu erhalten, so war einerseits, wie kürzlich *Nord*[1]), aber viel früher als *Orloff*[2]) nachweisen konnte, die umstehend in Verbindung mit den Vorgängen bei der alkoholischen Gärung gemachte Voraussetzung (4) auf experimentelle Grundlage gestellt worden.

Gleichzeitig sind wir aber in der Lage, die hypothetische Zwischenverbindung von *Claisen* als gesichert anzusehen, da die gemischten Ester in annähernd gleicher Ausbeute nur durch eine *isochrone Umlagerung* der entsprechenden Dialkyläther entstehen können.

Eine klare Deutung der Entstehung gemischter Ester war um so mehr erforderlich, da nach der Auffassung von *Lieben*[3]) die Entstehung des von *Kohn*[4]) erhaltenen Oktoglykols bzw. der Isobuttersäure auch im Sinne der Gleichungen:

$$2\,[(CH_3)_2.CH.CHOH.C(CH_3)_2CHO] + KOH = \overset{\text{Glykol}}{(CH_3)_2 - CHCHOH.C(CH_3)_2.CH_2OH} + (CH_3)_2CH.CHOH.C(CH_3)_2.COOK = (CH_3)_2.CH.CHO + \underset{\text{Isobuttersäure}}{CH(CH_3)_2.COOK}$$

aufgefaßt werden konnte.

Da wir wissen, daß Metallalkoholate eine große Additionsneigung zu Verbindungen besitzen, welche die CHO-Gruppe enthalten, und diese Additionsprodukte sich leicht mit anderen Carbonylverbindungen verkoppeln[5]), so könnte man sich vom Verlauf der *gemischten Cannizzaro*schen Reaktion, natürlich übereinstimmend für beide Aldehyde, folgende Vorstellung zu eigen machen:

$$R_1CHO + \underset{\text{Alkoholat}}{R_0OM} = R_1C{\begin{smallmatrix} H \\ OM \\ OR_0 \end{smallmatrix}} \qquad (5)$$

$$R_1C{\begin{smallmatrix} H \\ OM \\ OR_0 \end{smallmatrix}} + R_2CHO = R_1-\underset{\underset{OR_0}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-O-\underset{\underset{OM}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-R_2 \qquad (6)$$

$$R_1-\underset{\underset{OR_0}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-O-\underset{\underset{OM}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-R_2 = R_1.\underset{\underset{H}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-O-\underset{\underset{OM}{|}}{\overset{\overset{OR_0}{|}}{C}}-R_2 = \overset{\text{Ester}}{R_1-CH_2-O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-R_2} + R_0OM \qquad (7)$$

Voraussetzung für die exakte Verwirklichung dieser Annahme war die Zurückdrängung einer Reaktionsmöglichkeit im Sinne der Gleichung:

$$R_1COOCH_2R_1 + MOR_0 = R_1CH_2OM + R_0COOR_1 \qquad (8)$$

---

[1]) *F. F. Nord*, diese Zeitschr. **106**, 275, 1920; *F. F. Nord*, Chem. and Metallurg. Eng. **28**, 351, 1923.

[2]) *N. A. Orloff*, Bull. (4) **35**, **360**, **1924**.

[3]) *M. Lieben*, M. **22**, 297, 1901; vgl. *S. Zeisel*, B. **49**, 871, 1916.

[4]) *M. Kohn*, M. **22**, 37, 1901.

[5]) Vgl. *H. Scheibler* u. *H. Ziegner*, B. **55**, 789. 1922.

welche, da sie gleichfalls zu gemischten Estern führte, Unsicherheiten in der Bewertung der Ergebnisse entstehen lassen konnte.

Dieser Forderung konnten wir dadurch entsprechen, daß die Aldehydgemische in Parallelversuchen mit Alkoholaten behandelt wurden, welche ein von dem der Aldehyde abweichendes Radikal enthielten.

Durch diese Versuche ist es gelungen, die Annahme zu erhärten, daß der Entstehung von gemischten Estern eine *isochrone Umlagerung* von Dialkyläthern vorangehen muß. — *Eine dritte Art der Cannizzaroschen Umlagerung ist dadurch verwirklicht worden.*

Die Kondensationen wurden zwischen folgenden Aldehydpaaren untersucht:

1. Acetaldehyd und Furfurol,
2. Furfurol und Isobutyraldehyd,
3. Acetaldehyd und Chloral und
4. Bromal und Acetaldehyd.

Abgesehen von dem Ergebnis, welches den Reaktionsmechanismus betrifft, konnten hierbei die bisher unbekannten gemischten Ester:

Isobuttersäurefurylester,
Brenzschleimsäureisoamylester,
Essigsäuretribromäthylester und der
Tribromessigsäuretribromäthylester

isoliert werden.

Um ihre physikalischen Eigenschaften aber in Anbetracht der anschließenden Ausführungen sicher angeben zu können, wurden sie gleichzeitig auf synthetischem Wege hergestellt und auch durch Bestimmung des Molekulargewichts einwandfrei charakterisiert.

Es war nicht bei allen Estern möglich, sie in chemisch reinem Zustande zu isolieren, und so konnte die Auffassung, daß überhaupt die Gegenwart von Fraktionen vom Siedepunkte der betreffenden Ester den Eintritt der gemischten Cannizzarierung ohne weiteres anzeigt, nicht uneingeschränkt aufrechterhalten werden. Die Siedepunkte mancher Alkohole lagen zu denen der Ester so nahe, daß sie, wie dies bereits *Claisen*[1]) festgestellt hat, mit dem betreffenden Ester (und hier lagen die Verhältnisse noch viel komplizierter) ein durch Destillation — und, wie wir beobachten mußten, auch trotz Einschaltung des von *Staudinger*[2]) empfohlenen und von *Widmer*[3]) konstruierten Fraktionierapparates — nur unvollständig trennbares Gemenge darstellten. Aus dieser Erfahrung heraus wurden in allen Fällen die Ester teils durch Verseifung, dort aber, wo dies (insbesondere infolge der hartnäckig

[1]) *L. Claisen*, l. c.
[2]) *H. Staudinger*, Anleitung z. organ. Qualit. Anal., S. 24. Berlin 1923.
[3]) *G. Widmer*, Dissert. Zürich, T. H. 1923.

anhaftenden Spuren der Halogenalkohole) nicht angängig erschien, durch andere geeignete Verbindungen nachgewiesen.

Die Untersuchungen hatten aber noch eine weitere Voraussetzung bestätigt. Es war nämlich zu erwarten, daß bei der Wahl geeigneter Aldehyde neben den theoretisch interessanten gemischten Estern auch Alkohole gewonnen werden können, die bisher nur auf einem umständlichen chemischen oder biochemischen Wege erhalten wurden. Diese Annahme traf bei den Aldehydpaaren 3. und 4. zu.

Der Trichloräthylalkohol bzw. Tribromäthylalkohol war bis vor kurzem durch zwei theoretisch bemerkenswerte Darstellungsweisen zu erhalten. *Garzarolli-Thurnlackh*[1]) reduzierte Chloral mit Zinkäthyl zum Alkohol, der sich mit dem Alkohol, welchen *v. Mering* und *Musculus*[2]) durch Hydrolyse der von ihnen entdeckten Urochloralsäure erhalten haben, als identisch erwies.

Einen anderen Weg wies die Biochemie unabhängig von der Feststellung[3]), daß der Zymase reduzierende Wirkungen zukommen. Nach der Beobachtung von *Lintner* und *Lüers*[4]), daß Hefe, welche Zucker vergärt, Chloral in Trichloräthylalkohol zu überführen vermag, und nachdem *Neuberg*, *Nord*[5]) u. a. die festgestellten Reduktionsleistungen durch eingehendsten Ausbau bei Aldehyden der allerverschiedensten Reihen bei Thioaldehyden, Ketonen und Diketonen usw. verallgemeinern und unter theoretisch bedeutenden Voraussetzungen den Nachweis eines wahren fermentativen Reduktionsvorganges durch künstliche Festlegung des Gärungswasserstoffs erbringen konnten, hat *Duisberg*[6]) diese Versuche beim Chloral wiederholt und die Erfahrungen der obengenannten Forscher beim Bromal mit präparativem Erfolg angewandt.

Entsprechend den Forderungen der Gleichung:

$$CCl_3CH_2OCOCH_3 + HOH = CCl_3CH_2OH + CH_3COOH \qquad (9)$$

ist es uns nun gelungen, den Trichloräthylalkohol und Tribromäthylalkohol in Ausbeuten bis zu 87 bzw. 90 Proz. der Theorie zu isolieren und mittels der *Willstätter* und *Duisberg*[7]) geschützten Abkömmlinge zu kennzeichnen. Es ist dadurch möglich geworden, die Grundsubstanz des pharmakologisch wichtigen Trichlorurethans in bequemer Weise und den Tribromäthylalkohol zum erstenmal auf chemischem

[1]) *K. Garzarolli-Thurnlackh*, A. **210**, 64, 1881.
[2]) *J. v. Mering* und *F. Musculus*, B. 8, 662, 1875.
[3]) *E.* u. *H. Buchner* u. *M. Hahn*, Die Zymasegärung, S. 341, München 1903.
[4]) *C. I. Lintner* und *H. Lüers*, H. 88, 122, 1913.
[5]) Siehe die Literatur bei *F. F. Nord*, Die Naturwissenschaften 7, 685; 1919; *F. F. Nord*, diese Zeitschr. **108**, 315, 1920.
[6]) *R. Willstätter* und *W. Duisberg*, B. **56**, 2283, 1923.
[7]) D. R.-P. Nr. 358125 (12o) vom 4. September 1922.

Wege zu erhalten. *Die Nebenprodukte der Cannizzarierung sind zum Hauptprodukt geworden.*

Experimenteller Teil.

Der zu den Versuchen verwandte Acetaldehyd wurde 3 Tage lang über frisch geglühtem Natriumsulfat getrocknet und dann der Fraktionierung unterworfen. Die zwischen den Siedegrenzen von 20 bis 27° übergehende Fraktion wurde nach abermaligem längeren Trocknen zum zweitenmal fraktioniert. Für die Versuche gelangte die Fraktion zwischen 20 bis 24° zur Anwendung. Sämtliche anderen Aldehyde gelangten nach einmaligem Trocknen bzw. einfacher Rektifikation zur Anwendung. Die verwandten Metallalkoholate wurden im wesentlichen nach *Gladstone* und *Tribe*[1]) unter Anlehnung an die Angaben von *Henle*[2]) hergestellt.

I. Acetaldehyd und Furfurol.

1. Zu 7 g gepulvertem Aluminiumäthylat wurde ein stark gekühltes Gemisch von 44 g Acetaldehyd und 96 g Furfurol in einem 500 ccm fassenden Kolben hinzugefügt. Das stark exotherm reagierende Gemisch wurde unter kräftiger Kühlung unter einem mit Chlorcalciumrohr versehenen Rückflußkühler stehengelassen und die Kondensation im weiteren Verlauf nach zweitägigem Stehen bei Zimmertemperatur bzw. fünfstündigem Erwärmen auf dem Wasserbade zu Ende geführt. Nunmehr wurde die dunkelbraune, esterartig riechende, dicke Flüssigkeit mit 5proz. Salzsäure geschüttelt und das ausgeschiedene Öl mit Wasser wiederholt gewaschen. Nachdem das Waschwasser einige Male ausgeäthert wurde, erfolgte Vereinigung mit der Hauptmenge des Reaktionsproduktes. Die Ätherlösung wurde nunmehr mit Natriumbicarbonat entsäuert und nachher mehrere Tage über geglühtem Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abtreiben des Äthers mit Hilfe eines sechskugeligen Birektifikators wurde der Rückstand der Fraktionierung unterworfen. Es gingen über:

		bei gewöhnlichem Druck:			
	zwischen	72 und 160°	farblos	22,5 g	(Äthylalkohol, Essigsäureäthylester)
	„	160 „ 165	gelb	10,0 g	(hauptsächlich unverändertes Furfurol)
	„	165 „ 174	„	17,2 g	(hauptsächlich Furylalkohol)
a)	„	174 „ 177	„	3,3 g	(Essigsäurefurylester)
	„	177 „ 190	„	8,5 g	(Gemisch von Essigsäurefurylester und Brenzschleimsäureäthylester)
b)	„	190 „ 215	braun	3,4 g	(Brenzschleimsäureäthylester)
		bei 20 mm Druck:			
c)	zwischen	90 und 120°	gelblich	0,3 g	(Furfuracrolein)

---

[1]) *Gladstone* und *Tribe*, Soc. **29**, I, 158, 1876.

[2]) *F. Henle*, B. **53**, 719, 1920; vgl. auch *W. Tischtschenko*, C. **1900**, I, 10.

Der verbleibende Rückstand war dunkelbraun und zähflüssig. Nach den Siedegrenzen enthielt die Fraktion a) Essigsäurefurylester und die Fraktion b) Brenzschleimsäureäthylester (F. = 35°).

0,1547 g Substanz		0,3417 g CO_2	0,0792 g H_2O
$C_7H_8O_3$ (140).	Ber.:	59,97 Proz. C	5,76 Proz. H
	Gef.:	60,25 „ C	5,73 „ H

Nachweis a): 3 g des Esters wurden mit 1,5 g KOH in 8 ccm Methylalkohol (aceton- und äthylalkoholfrei) 3 Stunden lang auf dem Wasserbade erwärmt. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels destillierte 1 g Furylalkohol von Kp. = 168 bis 170°. Der Säurerest gab mit Silbernitrat Silberacetat:

0,1582 g Substanz		0,1351 g AgCl
$C_2H_3O_2Ag$ (167).	Ber.:	64,64 Proz. Ag
	Gef.:	64,41 „ Ag

Nachweis b): 3,4 g Ester wurden mit 10 ccm Methylalkohol und 2 g KOH 3 Stunden lang auf dem Wasserbade erwärmt. Es resultierte einerseits Äthylalkohol, andererseits eine braune Kristallmasse, die nach Sublimation den Schmelzpunkt der Brenzschleimsäure (128°) zeigte.

Nachweis c): Die zu Kristallen erstarrte Masse wurde der Sublimation unterworfen und nachher aus Methylalkohol umkristallisiert. Die weißen Nadeln stellten Furfuracrolein (F. = 51°) dar. Die Gesamtausbeute an gemischten Estern beträgt 11 Proz. der angewandten Aldehydmenge.

2. Um den Nachweis zu erbringen, daß die Bildung der gemischten Ester auf die Vereinigung zweier verschiedener Aldehyde zurückzuführen ist, und ihre Entstehung nicht der direkten Umsetzung zwischen dem einen Aldehyd einerseits und dem Kondensationsmittel andererseits zurückzuführen ist, wurde die Kondensation wie folgt ausgeführt:

Zu einem stark gekühlten Gemisch von 48 g Furfurol und 22 g Acetaldehyd wurde 3,5 g (5 Proz.) Aluminiumisoamylat hinzugefügt. Nach der gleichen wie unter 1. angegebenen Aufarbeitung des Reaktionsgemisches wurden nach der Fraktionierung erhalten:

	bei gewöhnlichem Druck:		
bis 150°	farblos	9,3 g	(Äthylalkohol, Essigsäureäthylester, Essigsäureisoamylester und Isoamylalkohol)
	unter 22 mm Druck:		
bis 80°	gelb	4,5 g	(Furfurol und Furylalkohol)
	unter 12,5 mm Druck:		
a) zwischen 67 und 74°	gelb	2,9 g	(Essigsäurefurylester)
b) „ 74 „ 80	„	1,2 g	(Brenzschleimsäureäthylester)
	unter 11,5 mm Druck:		
c) zwischen 80 und 130°	braun	0,9 g	(Brenzschleimsäureisoamylester)

Nachweis a): Die Fraktion wurde mit 2,5 g KOH in 3 ccm Wasser auf dem Wasserbade erwärmt und der resultierende Furylalkohol zwischen 167 und 170° abdestilliert. Der Säurerest wurde als essigsaures Silber identifiziert.

Nachweis b): 1,2 g von der Fraktion wurden mit 0,5 g KOH und einem Kubikzentimeter Wasser verseift. Es wurden erhalten: Äthylalkohol

vom Siedepunkt 78°, welcher in Acetaldehyd überführt wurde, und Brenzschleimsäure vom Schmelzpunkt 128°.

Nachweis c): Diese Fraktion wurde mit 1,0 g KOH und 1,5 ccm Wasser verseift. Der nach der Verseifung erhaltene, bei 131° siedende Isoamylalkohol wurde noch zur Identifizierung in Essigsäureisoamylester übergeführt. Der Säurerest (Brenzschleimsäure) schmolz nach der Sublimierung bei 129°. Ausbeute an gemischten Estern (a und b) = 6 Proz.

Zur einwandfreien Identifizierung des bisher nicht bekannten Brenzschleimsäureisoamylesters werden zwecks seiner Gewinnung 10 g Brenzschleimsäure, 40 g Isoamylalkohol und 20 ccm Salzsäure (1,19) miteinander innig gemischt und nach einige Zeit währendem Kochen am Rückflußkühler stufenweise eingeengt. Die Destillation wird bis zur beginnenden Dunkelung der übergehenden Flüssigkeit fortgesetzt. Nachdem das Destillat mit Wasser sorgfältig gewaschen wurde, nahmen wir das Öl in Äther auf und trockneten den Auszug über frisch geglühtem Natriumsulfat. Die nach dem Entfernen des Äthers erhaltene Flüssigkeit roch birnenartig und siedete unter 11 mm Druck bei 111 bis 111,5°, Ausbeute = 11,2 g. D_4^{20} = 1,0367.

0,1491 g Substanz		0,3580 g CO_2	0,1016 g H_2O
$C_{10}H_{14}O_3$ (182).	Ber.:	65,89 Proz. C	7,75 Proz. H
	Gef.:	65,49 „ C	7,63 „ H

3. Nach der gleichen Behandlung eines Gemisches von 22 g Acetaldehyd und 48 g Furfurol mit 7 g (10 Proz.) Magnesiummethylat wurden folgende Fraktionen erhalten:

unter Normaldruck:

unter 130°	farblos	12,2 g	(Methylalkohol, Äthylalkohol, Essigsäuremethylester, Essigsäureäthylester)
zwischen 130 und 170°	farblos	10,0 g	(Furfurol, Furylalkohol)

unter 19 mm Druck:

zwischen 100 und 125°	dunkelbraun	2,0 g	(höhere Kondensationsprodukte)
„ 100 „ 125	gelb	6,2 g	(Furfuracrolein)

Eine Kondensation in erwartetem Sinne erfolgte in Gegenwart von Magnesiummethylat nicht.

II. Isobutyraldehyd und Furfurol.

1. 36 g Isobutyraldehyd (Kp. 160,5 bis 162) und 48 g Furfurol (Siedepunkt 168 bis 170°) wurden in Gegenwart von 8,4 g (10 Proz.) Aluminiumäthylat erst unter Kühlung, eine Woche lang bei Zimmertemperatur und zuletzt während 20 Stunden auf dem Wasserbade kondensiert. Die Aufarbeitung der dicken, dunkelbraunen Flüssigkeit wurde in der gleichen Weise durchgeführt wie unter I., 1. beschrieben.

Bei der Fraktionierung gingen über:

unter 9 mm Druck:

bis 65°	farblos	26,9 g	(Isobutyralkohol, Isobuttersäureisobutylester)

zwischen 12,5 und 13 mm Druck:

	bis 75°	gelb	7,2 g	(Isobutyraldehyd, Furfurol und Furylalkohol)
a)	zwischen 75 und 80,5	,,	0,75 g	(Brenzschleimsäureäthylester, Isobuttersäurefurylester)
b)	,, 80,5 ,, 83	,,	1,85 g	(Isobuttersäurefurylester)
c)	,, 83 ,, 96	,,	1,6 g	(Isobuttersäurefurylester und Brenzschleimsäureisobutylester)
d)	,, 96 ,, 98	braun	0,5 g	(Brenzschleimsäureisobutylester)
	über 98°	dunkelbraun	4,0 g	(höhere Kondensationsprodukte)

Nach den Siedegrenzen enthielten die Fraktionen a bis d den gesuchten Isobuttersäurefurylester und Brenzschleimsäureisobutylester.

Nachweis a): 0,75 g Substanz wurden mit 0,3 g KOH in einem Kubikzentimeter Wasser verseift. Erhalten wurden nach der Aufarbeitung Äthylalkohol bzw. Brenzschleimsäure, F. 129° (nach der Sublimierung).

Nachweis b): 0,15 g Ester wurden mit 1,2 ccm 50proz. KOH-Lösung 5 Stunden lang auf dem Wasserbade erwärmt; der erhaltene Furylalkohol siedete zwischen 167 bis 170°. Isobuttersäure wurde als isobuttersaures Silber nachgewiesen.

0,1453 g Substanz		0,3455 g CO_2	0,0945 g H_2O
$C_9H_{12}O_3$ (168,1).	Ber.:	64,25 Proz. C	7,20 Proz. H
	Gef.:	64,85 ,, C	7,28 ,, H

Nachweis c): 1,5 g Estergemisch wurden 8 Stunden lang mit 1,2 ccm 50proz. KOH-Lösung auf dem Wasserbade behandelt. Erhalten wurden: Furylalkohol Kp. 167 bis 170°, Isobuttersäure, nachgewiesen als isobuttersaures Silber, und Brenzschleimsäure, F. = 130° (nach der Sublimation).

0,1339 g Substanz		0,3198 g CO_2	0,9833 g H_2O
$C_9H_{12}O_3$ (168).	Ber.:	64,25 Proz. C	7,20 Proz. H
	Gef.:	65,14 ,, C	7,8 ,, H

Ausbeute an gemischten Estern 5,6 Proz.

Zur Identifizierung des bisher nicht bekannten Isobuttersäurefurylesters wurde die Verbindung synthetisch wie folgt dargestellt:

10 g Furylalkohol (Kp.$_{12}$ 65 bis 67°) wurden mit 19 g Isobuttersäureanhydrid ($D_{16,5}$ = 0,9574) gut gemischt und 5 Stunden lang auf direkter Flamme am Rückflußkühler erhitzt. Die nach der Abkühlung ins Wasser gegossene Flüssigkeit schied sich als Öl ab. Das ausgeschiedene Öl wurde mit Äther aufgenommen, der ätherische Auszug mit Wasser gut gewaschen und über geglühtem Natriumsulfat getrocknet. Der erhaltene Isobuttersäurefurylester ging farblos unter 15 mm Druck zwischen 85 und 86° über. D_4^{20} = 1,0313. Ausbeute 8,0 g.

0,1507 g Substanz		0,3509 g CO_2	0,1013 g H_2O
$C_9H_{12}O_3$ (168,1).	Ber.:	64,25 Proz. C	7,20 Proz. H
	Gef.:	63,50 ,, C	7,56 ,, H

III. Chloral und Acetaldehyd.

1. Zu 4,3 g (5 Proz.) gepulvertem Magnesiummethylat wurde das gut gekühlte Gemisch von 66 g Chloral und 20 g Acetaldehyd hinzugefügt und, da bei der Reaktion eine große Menge Wärme frei wird, die Kühlung

über Nacht fortgesetzt. Hierbei konnte eine Farbänderung von farblos zu dunkelgrün beobachtet werden. Die Kondensation wurde dann noch weitere 2 Tage bei Zimmertemperatur fortgesetzt und nach einer anschließenden Erwärmung während der Dauer von 5 Stunden auf dem Wasserbade zu Ende geführt. Nach mit den vorher beschriebenen Reaktionen übereinstimmender Aufarbeitung des Reaktionsgemisches gingen bei der Fraktionierung über:

unter 759 mm Druck:

	bis 147°	farblos	5,2 g	(Essigsäureäthylester, Äthylalkohol usw.)

zwischen 10 und 11 mm Druck:

a)	zwischen 45 und 55°	farblos	16,6 g	(Trichloräthylalkohol)
b)	,, 55 ,, 63	,,	0,7 g	(Essigsäuretrichloräthylester, Trichloressigsäureäthylester, Trichloressigsäuremethylester)
	,, 63 ,, 90	,,	1,4 g	(höhere Kondensationsprodukte)

Nachweis a): Der erhaltene Trichloräthylalkohol wurde ins Trichloräthylurethan übergeführt. F. = 64°.

2. Das Gemisch von 20 g Acetaldehyd und 66 g Chloral wurde nach erfolgter Kühlung mit 8,6 g = 10 Proz. Aluminiumäthylat 2 Tage bei Zimmertemperatur und 5 Stunden auf dem Wasserbade behandelt. Die Fraktionierung des in analoger Weise wie oben aufgearbeiteten Reaktionsgemisches lieferte:

zwischen 11 und 12 mm Druck:

a)	zwischen 40 und 45°	farblos	2,8 g	
b)	,, 45 ,, 58	,,	18,0 g	(Trichloräthylalkohol)
c)	,, 58 ,, 65	,,	3,6 g	(Essigsäuretrichloräthylester und Trichloressigsäureäthylester)
	,, 65 ,, 127	,,	1,6 g	(höhere Kondensationsprodukte)

Nachweis a): Die aus dem Destillat ausgeschiedenen weißen nadelförmigen Kristalle — 0,3 g — erwiesen sich nach dem Nachweis von Halogen und Äthylalkohol als Chloraläthylalkoholat. F. 45 bis 46,5°.

Nachweis b): Der erhaltene Trichloräthylalkohol, dem auch Spuren von Trichloressigsäureäthylester bzw. Essigsäuretrichloräthylester beigemengt waren, wurde ins Urethan übergeführt. Bei der Verseifung wurde Chloroform (Kp. 60 bis 61°) und Äthylalkohol (Kp. 78°) erhalten.

Essigsäuretrichloräthylester wurde dadurch nachgewiesen, daß das Gemisch bei der Behandlung mit Zinkspänen und Äthylalkohol nach stark exothermer Reaktion unsymmetrisches Dichloräthylen (Kp. 33 bis 35°) geliefert hat. Diese Reaktion ist eindeutig auch in Gegenwart von Trichloressigsäureäthylester und Trichloräthylalkohol.

Nachweis c):

0,2008 g Substanz		0,1502 g CO_2	0,0462 g H_2O	
0,2035 g ,,				0,5238 g AgCl
$C_2H_3OCl_3$ (149,4).	Gef.:	16,06 Proz. C	2,02 Proz. H	71,20 Proz. Cl
$C_4H_5O_2Cl_3$ (191,4).	Ber.:	25,08 ,, C	2,63 ,, H	55,57 ,, Cl
	Gef.:	20,40 ,, C	2,57 ,, H	63,68 ,, Cl

Es lag hier also ein Gemisch der beiden gemischten Ester einerseits und von Trichloräthylalkohol andererseits vor. 1 g dieser Fraktion wurde mit 1 g Zink und 5 ccm 98proz. Äthylalkohol versetzt. Es wurde Dichloräthylen erhalten.

Gleichzeitig wurde 1,5 g dieser Fraktion mit 1 g KOH in 2 ccm Wasser gelöst, verseift; erhalten wurde: Chloroform und Äthylalkohol.

3. Bei diesem Versuche wurde ein Gemisch von 50 g Chloral und 17 g Acetaldehyd verdünnt durch 150 ccm absoluten Äther in Gegenwart von 6,7 g (10 Proz.) Aluminiumäthylat 18 Tage lang bei Zimmertemperatur und 10 Stunden über dem Wasserbade stehengelassen. Bei der Destillation der Kondensationsprodukte nach in gleicher Weise wie früher erfolgter Aufarbeitung des Reaktionsgemisches wurde erhalten:

		bei 9 mm Druck:		
a)	zwischen 43 und 56°	farblos	16,5 g	(Trichloräthylalkohol)
b)	„ 56 „ 63	„	7,45 g	(Essigsäuretrichloräthylester u. Trichloressigsäureäthylester)
c)	„ 63 „ 70	„	2,05 g	(höhere Kondensationsprodukte)

Nachweis a): Die Identifizierung erfolgte durch Überführung in das Trichloräthylurethan. F. 62°.

Nachweis b): Zum Nachweis des Essigsäuretrichloräthylesters wurden 5 g des Gemisches mit 5 g Zinkspänen und 98proz. Äthylalkohol am Wasserbade erwärmt. Erhalten wurde Dichloräthylen (Kp. 33 bis 35°). Zum Nachweis des Trichloressigsäureäthylesters wurden 2 g des Gemisches mit 2 g KOH gelöst in 4 ccm Wasser verseift. Es konnte hierbei Chloroform (Kp. 61°) und Äthylalkohol isoliert werden.

4. Angesichts der Ergebnisse der in diesem Kapitel (§ 1) mitgeteilten Beobachtungen scheint es angebracht, um den Nachweis der Entstehung der gemischten Ester aus zwei verschiedenen Aldehyden zu erbringen, die Kondensation in Gegenwart eines Alkoholats vorzunehmen, dessen Radikale mit dem der Aldehyde nicht übereinstimmt. Diesen Versuch durchzuführen, war um so erforderlicher, da eine Reaktion auch im Sinne der Gleichung (8) (S. 261) verlaufen kann. Es wurden daher im vorliegenden Falle 66 g Chloral gemischt mit 20 g Acetaldehyd in Gegenwart von 17,2 g Aluminiumisoamylat (20 Proz.), nach anfänglicher Kühlung 12 Tage bei Zimmertemperatur und 10 Stunden auf dem Wasserbade der Kondensation überlassen. Nach den bisherigen Verfahren analoger Aufarbeitung wurden die Kondensationsprodukte zwischen 10 bis 11,5 mm der fraktionierten Destillation unterworfen. Es wurden erhalten:

a)	zwischen 45 und 58°	farblos	17,6 g	(Trichloräthylalkohol)
b)	„ 58 „ 65	„	2,8 g	(Essigsäuretrichloräthylester u. Trichloressigsäureäthylester)
c)	„ 65 „ 92	„	4,1 g	(Gemische)
d)	„ 92 „ 95	„	2,3 g	(Trichloressigsäureisoamylester)

Nachweis a): Die Fraktion wurde gesammelt und das Destillat unter 10 mm Druck und zwischen 47 und 55° aufgefangen. Hiernach wurde der Alkohol in 40 g Benzol gelöst und mit 34,7 g Chinolin gemischt. Zu diesem Gemisch wurden 26,7 g Phosgen in 80 g Benzol gelöst, nach und nach hinzugefügt. Nach mehrtägigem Stehen wurde Eiswasser zugesetzt und das Chinolin mittels stark verdünnter Salzsäure entfernt. Hierbei wurde die Benzollösung mit Chlorcalcium getrocknet und in die getrocknete

Lösung Ammoniak eingeleitet. Nach Abdestillieren des Benzols wurde der Rückstand, Trichloräthylurethan wiederholt aus Petroläther umkristallisiert. F. 58 bis 62°.

0,005 77 g Substanz		0,364 ccm N	(t = 21° B 760 mm)
0,059 65 g ,,			0,134 14 g AgCl
$C_3H_4O_2NCl_3$ (192,4).	Ber.:	7,28 Proz. N	55,28 Proz. Cl
	Gef.:	7,32 ,, N	55,63 ,, Cl

Nachweis b): Zu 1,5 g des Gemisches wurden 2 g Zinkspäne und 8 ccm 98proz. Äthylalkohols hinzugefügt. Nach stark exothermer Reaktion konnte entsprechend dem vorhandenen Essigsäuretrichloräthylester unsymmetrisches Dichloräthylen nachgewiesen werden. Zum Nachweise des Trichloressigsäureäthylesters wurde 1 g des Gemisches mit 0,7 g KOH gelöst in 1,5 ccm Wasser verseift. Es konnte Chloroform (Kp. 61°) und Äthylalkohol (Kp. 78°) nachgewiesen werden.

IV. Bromal und Acetaldehyd.

1. Zu 5,8 g (5 Proz.) gepulvertem Magnesiummethylat wurde das gut gekühlte Gemisch von 16 g Acetaldehyd und 100 g Bromal hinzugefügt. In Anbetracht der stark exothermen Reaktion, welche von einer Änderung der Farbe des Reaktionsgemisches von braun in dunkelgrün begleitet war, wurde die Reaktion zunächst 10 Stunden unter Kühlung fortgesetzt und nach dreitägigem Stehen bei Zimmertemperatur und 5 Stunden auf dem Wasserbade zu Ende geführt. Die erhaltene dunkelbraune Paste wurde in Äther aufgelöst und nach der Behandlung mit 5proz. Salzsäure, Natriumbicarbonat und geglühtem Natriumsulfat der fraktionierten Destillation unter vermindertem Druck unterworfen. Es wurde erhalten:

a)	zwischen 87 und 95°	farblos	22,2 g	
b)	,, 87 ,, 95	weiße Kristalle	18,3 g	(Tribromäthylalkohol)

Nachweis b): Die erhaltenen Kristalle schmolzen nach dem Umkristallisieren bei 80°. ***Es konnte also Tribromäthylalkohol zum ersten Male auf chemischem Wege in guter Ausbeute erhalten werden.***

2. Zu einem Gemisch von 100 g Bromal und 16 g Acetaldehyd wurde nach starker Abkühlung 11,6 g (10 Proz.) Aluminiumäthylat hinzugefügt und, nachdem die Kondensation 2 Tage lang bei Zimmertemperatur vor sich ging, nach fünfstündiger Erwärmung auf dem Wasserbade zu Ende geführt. Nach, mit der oben angegebenen Aufarbeitung übereinstimmender Zerlegung des Reaktionsgemisches wurden bei der Vakuumdestillation erhalten:

		unter 17 mm Druck:		
a)	zwischen 95 und 107°	farblos	7 g	(Äthylalkohol und Essigsäureäthylester)
b)	,, 99 ,, 103	weiße Kristalle	30,75 g	(Tribromäthylalkohol)
c)	,, 107 ,, 112	farblos	23,8 g	(Tribromessigsäureäthylester und Essigsäuretribromäthylester)
d)	,, 112 ,, 119	braun	3,8 g	(höhere Kondensationsprodukte)

Nachweis b): Die Kristalle schmolzen nach dem Umkristallisieren aus Petroläther bei 80°.

Nachweis c): Zu 5 g des Gemisches wurden zwecks Verseifung 1 g KOH und 20 ccm Wasser hinzugefügt. Entsprechend dem vorhandenen

Tribromessigsäureäthylester wurde 1 g Bromoform (Kp. 148 bis 152°) und Äthylalkohol (Kp. 78°) erhalten. Zum Nachweis des Essigsäuretribromäthylesters wurden 6 g des Gemisches in Kohlensäuregasatmosphäre unter starker Kühlung nach erfolgter Verdünnung mit 20 g 98proz. Äthylalkohol mit 6 g Zinkspänen behandelt. Nachdem die Gasentwicklung aufgehört hat, wurde die Alkohollösung in Wasser gegossen und das filtrierte Gemisch wurde in Kohlensäurestrom fraktioniert. Bei der Verdünnung des zwischen 85 und 95° aufgefangenen Destillats schied sich ein Öl ab, welches Brom addierte, knoblauchartig roch und halogenhaltig war. Es hat sich als Dibromäthylen (Kp. 87 bis 90°) erwiesen. Das nebenbei entstandene Gas ist nach *Jocitsch*[1]) als Vinylbromid anzusprechen.

0,2167 g Substanz		0,1045 g CO_2	0,0301 g H_2O	
0,2007 g ,,				0,3622 g AgBr
$C_4H_5O_2Br_3$ (324,8).	Ber.:	14,78 Proz. C	1,54 Proz. H	73,82 Proz. Br
$C_2H_3OBr_3$ (282,8).	Ber.:	8,49 ,, C	1,06 ,, H	84,79 ,, Br
	Gef.:	13,15 ,, C	1,09 ,, H	76,78 ,, Br

Wie aus der Analyse hervorgeht, hafteten dem Gemisch der Ester der darin leicht lösliche und zwischen den gleichen Grenzen siedende Tribromäthylalkohol an. Zur Identifizierung des bisher nicht bekannten Essigsäuretribromäthylesters wurde die Verbindung durch Behandeln von 18,2 g Tribromäthylalkohol mit 6,0 g Acetylchlorid hergestellt. Der Alkohol wurde in dem überschüssigen, stark gekühlten Acetylchlorid aufgelöst und später 8 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Nach erfolgter Abkühlung wurde die etwas gelblich gefärbte Flüssigkeit in Wasser gegossen, das ausgeschiedene Öl mit Wasser gewaschen und nach erfolgtem Trocknen über geglühtes Natriumsulfat rektifiziert. Es gingen über zwischen 13,5 bis 14 mm unter 105° 6,6 g (Vorlauf):

zwischen 105 und 105,5° 10,6 g

0,1789 g Substanz		0,0984 g CO_2	0,0278 g H_2O	
0,1941 g ,,				0,3368 g AgBr
$C_4H_5O_2Br_3$ (324,8).	Ber.:	14,78 Proz. C	1,54 Proz. H	73,82 Proz. Br
	Gef.:	15,02 ,, C	1,79 ,, H	73,82 ,, Br

Farblose Flüssigkeit, mit an ätherische Öle erinnerndem Geruch ($Kp._{17}$ 109 bis 109,3°, $Kp._{765,5}$ 225 bis 227°) unter Zersetzung. D_4^{20} 2,2577.

Molekulargewichtsbestimmung:

Benzol	10,7702 g		
1. Substanz	0,1316 g	Δ 0,191°	M. 319,9
2. ,,	0,2371 g	Δ 0,340°	M. 323,7
		Gef.:	M. 321,8
		Ber.:	M. 324,8

3. Das Gemisch von 16 g Acetaldehyd und 100 g Bromal wurde in 150 ccm absolutem Äther gelöst und in einem mit Rückflußkühler und Chlorcalciumverschluß versehenen Rundkolben mit 11,6 g (10 Proz.) Aluminiumäthylat in Berührung gebracht. Die Reaktion geht unter starker Wärmeentwicklung vor sich, weshalb das Reaktionsgemisch stark gekühlt wurde. Nachdem das Gemisch 13 Tage bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen und 10 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt war, erfolgte die Aufarbeitung wie unter 1. Es wurden erhalten:

[1]) C. 1899, I, 777.

unter 9 mm Druck:

	zwischen 87 und 99°	farblos	7,6 g	(Gemisch von niedrig siedenden Kondensationsprodukten)
a)	„ 87 „ 99	weiße Kristalle	44,0 g	(Tribromäthylalkohol)
b)	„ 99 „ 103	farblos	9,4 g	(Gemisch von Essigsäuretribromäthylester und Tribromessigsäureäthylester)

Nachweis a): Die Fraktion zeigte nach dem Umkristallisieren aus Petroläther einen F. = 80°.

Nachweis b): Zum Nachweise des in dem Gemisch vorhandenen Tribromessigsäureäthylesters wurden 2 g Substanz mit 0,5 g KOH und einem Kubikzentimeter Wasser verseift. Es wurden Bromoform (Kp. 148 bis 152°) und Äthylalkohol erhalten. Der Nachweis des Essigsäuretribromäthylesters wurde in gleicher Weise wie auf S. 271 beschrieben vorgenommen.

4. Um den Nachweis zu erbringen, daß die Entstehung der gemischten Ester tatsächlich auf der Vereinigung der beiden Aldehyde beruht, d. h. nicht im Sinne der Gleichung (8) bewirkt wurde (vgl. Einleitung), wurde der Versuch gemacht, das Gemisch von 100 g Bromal und 16 g Acetaldehyd in Gegenwart von 19 g (16,3 Proz.) Aluminiumisoamylat unter sonst gleichen Bedingungen wie unter 2. beschrieben, zu kondensieren. Nach der Fraktionierung bei 8 mm Druck wurden erhalten:

	zwischen 86 und 98°	farblos	7,5 ccm	(Gemisch von niedrig siedenden Kondensationsprodukten)
a)	„ 86 „ 98	weiße Kristalle	25,5 g	(Tribromäthylalkohol)
b)	„ 98 „ 103	farblos	8,3 g	(Gemisch von Essigsäuretribromäthylester und Tribromessigsäureäthylester)
c)	„ 103 „ 121	dunkel	1,5 g	(Tribromessigsäureisoamylester)

Nachweis a und b wurden in analoger Weise wie oben beschrieben vorgenommen und außerdem der Tribromäthylalkohol in das entsprechende Urethan in gleicher Weise wie beim Trichloräthylalkohol mitgeteilt (siehe S. 269) übergeführt. Die erhaltenen weißen Nädelchen schmolzen zwischen 86,5 und 87,5°.

0,1895 g Substanz		7,60 ccm N	(23°, 757 mm)
0,2205 g „			0,3857 g AgBr
$C_3H_4O_2NBr_3$ (326).	Ber.:	4,3 Proz. N	73,59 Proz. Br
	Gef.:	4,6 „ N	73,51 „ Br

V. *Trichloräthylalkohol und Tribromäthylalkohol.*

Um die Ausbeuteverhältnisse bei der Entstehung des Trichloräthylalkohols bzw. Tribromalkohols besser studieren zu können, wurde in einer Reihe von Versuchen die Kondensation von Chloral bzw. Bromal durchgeführt.

1. 100 g Chloral wurden mit 10 g Magnesiummethylat einen Tag unter Kühlung, 10 Tage bei Zimmertemperatur und 10 Stunden auf dem Wasserbade stehengelassen. Nach der Behandlung der dicken, dunkelbraunen, noch stark nach unverändertem Chloral riechenden Flüssigkeit mit 5proz. Salz-

säure, Äther, Natriumbicarbonat usw. wurden nach der Fraktionierung unter 10 mm Druck erhalten:

zwischen	50 und 54°	farblos	17,0 g	(Trichloräthylalkohol)
„	54 „ 108	„	4,0 g	(Trichloressigsäuremethylester ?)
„	54 „ 108	weiße Kristalle	11,4 g	(Trichloressigsäuretrichloräthylester, F. 25 bis 27°)

2. Bei der Kondensation von 50 g Chloral mit 5 g Aluminiumäthylat wurden erhalten bei zehntägiger Dauer der Reaktion bei Zimmertemperatur bzw. zehnstündiger Erwärmung auf dem Wasserbade:

unter 9 mm Druck:

zwischen	50 und 54°	farblos	13,0 g	(Trichloräthylalkohol)
„	54 „ 110	„	5,3 g	(Trichloressigsäureäthylester ?)
„	54 „ 110	weiße Kristalle	7,9 g	(Trichloressigsäuretrichloräthylester, F. 25 bis 27°)

3. 50 g Chloral wurden in 50 ccm absolutem Äther gelöst und mit 5 g Aluminiumäthylat 13 Tage bei Zimmertemperatur und 10 Stunden auf dem Wasserbade stehengelassen. Nach der Fraktionierung wurden erhalten:

bei 9 mm Druck:

zwischen	50 und 54°	farblos	16,1 g	(Trichloräthylalkohol)
„	80 „ 107	„	5,8 g	(Trichloressigsäureäthylester ?)
„	80 „ 107	weiße Kristalle	3,1 g	(Trichloressigsäuretrichloräthylester)

Die dem Trichloräthylalkohol entsprechenden Fraktionen wurden nach der Vereinigung einer abermaligen Rektifikation unterzogen. $Kp._{10}$ 52 bis 54°.

0,1572 g Substanz		0,0917 g CO_2	0,0298 g H_2O	
0,1784 g „				0,5140 g AgCl
$C_2H_3OCl_3$ (149,4).	Ber.:	16,06 Proz. C	2,02 Proz. H	71,20 Proz. Cl
	Gef.:	15,91 „ C	2,12 „ H	71,28 „ Cl

Zur Identifizierung des Trichloräthylalkohols wurde der Alkohol mit etwas mehr als der äquivalenten Menge Acetylchlorid nach zehnstündiger Erwärmung auf dem Wasserbade in den Essigsäuretrichloräthylester übergeführt. Er siedete unter 10 mm Druck zwischen 61 und 62° und lieferte nach der Behandlung mit Zinkspänen und Äthylalkohol Dichloräthylen. Zur Identifizierung des Trichloressigsäuretrichloräthylesters[1]) wurden die entsprechenden Fraktionen (F. 25 bis 27°) vereinigt und nochmals destilliert. Die Fraktion siedete zwischen 11 und 12 mm, zwischen 109,5 und 110° und zeigte nach dem Erstarren einen F. von 25 bis 27°.

0,2000 g Substanz		0,1163 g CO_2	0,0119 g H_2O	
0,1610 g „				0,4690 g AgCl
$C_4H_2O_2Cl_6$ (296).	Ber.:	16,28 Proz. C	0,68 Proz. H	72,18 Proz. Cl
	Gef.:	15,86 „ C	0,67 „ H	72,06 „ Cl

Molekulargewichtsbestimmung:

Benzol:	10,746 g		
1. Substanz	0,1175 g	Δ = 0,198°	M. = 276,1
2. „	0,2527 g	Δ = 0,402	M. = 292,5
3. „	0,3892 g	Δ = 0,617	M. = 293,5
	Gef.:		M. = 287,4
	Ber.: $CCl_3COOCH_2CCl_3$		M. = 294,8

[1]) *Delacre*, Bl. (2) 48, 710, 787.

4. Die Kondensation von 50 g Bromal mit 5 g (10 Proz.) Magnesiummethylat wurde übereinstimmend mit der unter Kap. V., § 1 beschriebenen Weise durchgeführt. Die Fraktionierung unter 10 mm Druck ergab: zwischen 90 und 107° weiße Kristalle, 6,5 g (Tribromäthylalkohol und eine geringe Menge eines flüssigen höheren Kondensationsproduktes).

5. Bei der Kondensation von 50 g Bromal mit 5 g Aluminiumäthylat während der Dauer von 4 Tagen bei Zimmertemperatur und 15 Stunden auf dem Wasserbade ergab die Rektifikation der dunkelbraunen, dickflüssigen Reaktionsmasse bei 11 mm Druck:

a)	zwischen 90 und 104°	farblose Flüssigkeit	13,2 g	(Tribromessigsäureäthylester)
b)	„ 90 „ 104	weiße Kristalle	10,8 g	(Tribromäthylalkohol)
c)	„ 110 „ 195	bräunlich dicke Flüssigkeit, welche nach der Destillation sofort erstarrte	14,1 g	(Tribromessigsäuretribromäthylester)

Nachweis a):

0,2529 g Substanz		0,1095 g CO_2	0,0307 g H_2O	
0,2009 g „				0,3738 g AgBr
$C_4H_5O_2Br_3$ (325).	Ber.:	14,78 Proz. C	1,54 Proz. H	73,82 Proz. Br
$C_2H_3OBr_3$ (283).	Ber.:	8,49 „ C	1,06 „ H	84,79 „ Br
	Gef.:	11,81 „ C	1,36 „ H	79,18 „ Br

Bei der Verseifung von 5 g der Flüssigkeit mit 1 g KOH gelöst in 2 ccm Wasser konnten 2 g Bromoform (Kp. 148 bis 152°) und Äthylalkohol isoliert werden. Übereinstimmend mit der Analyse lag also ein Gemisch von Tribromessigsäureäthylester und Tribromäthylalkohol vor.

Nachweis b): Die weißen Kristalle schmolzen nach dem Umkristallisieren aus Petroläther bei 80°.

Nachweis c): Die Kristalle der Fraktion wurden durch Umkristallisation aus Methylalkohol bzw. Petroläther gereinigt (F. = 69°). Nach der abermaligen Destillation bei 15,5 mm gingen sie zwischen 206 und 207° über und schmolzen unverändert bei 69°.

0,1879 g Substanz		0,0600 g CO_2	0,0072 g H_2O	
0,2053 g „				0,4107 g AgBr
$C_4H_2O_2Br_6$ (562).	Ber.:	8,55 Proz. C	0,36 Proz. H	85,39 Proz. Br
	Gef.:	8,71 „ C	0,43 „ H	85,13 „ Br

Molekulargewichtsbestimmung:

Benzol:	11,5286 g		
1. Substanz	= 0,1168	Δ = 0,094°	M. = 538,9
2. „	= 0,2799	Δ = 0,219	M. = 554,3
3. „	= 0,4068	Δ = 0,313	M. = 563,7
Ber.:	$CBr_3COOCH_2Br_3$ . . .		M. = 552,3
Gef.:	. . . .		M. = 561,5

6. 50 g Bromal gelöst in 50 ccm absolutem Äther wurden nach starker Abkühlung zu 5 g Aluminiumäthylat hinzugefügt und 15 Tage lang bei Zimmertemperatur bzw. 10 Stunden auf dem Wasserbade stehengelassen. Die Fraktionierung des Reaktionsgemisches nach der der bisherigen entsprechenden Aufarbeitung ergaben unter 11 mm Druck zwischen 90 und 103° 30,4 g Destillat eines farblosen Destillates, wovon 15 g kristallinisch erstarrten. Die Kristalle schmolzen nach abermaliger Rektifikation

(Kp. 92 bis 95°) und Umkristallisation aus Petroläther bei 80° und erwiesen sich als Tribromäthylalkohol.

0,2613 g Substanz	0,0812 g CO_2	0,0258 g H_2O	
0,1828 g „			0,3639 g AgBr
$C_2H_3OBr_3$ (283). Ber.:	8,49 Proz. C	1,06 Proz. H	84,79 Proz. Br
Gef.:	8,47 „ C	1,11 „ H	84,71 „ Br

Molekulargewichtsbestimmung:

Benzol:	= 8,7262 g		
1. Substanz	= 0,1645 g	Δ = 0,337°	M. = 279,6
2. „	= 0,3162 g	Δ = 0,622	M. = 291,3
3. „	= 0,4837 g	Δ = 0,927	M. = 299,0
	Gef.:		M. = 290,0
	Ber.: CBr_3CH_2OH . .		M. = 282,8

Die mit den Kristallen übergegangene Flüssigkeit erwies sich nach der Verseifung als Tribromessigsäureäthylester.

Übersicht.

Aldehyd	Katalysator	Lösungsmittel	Vorlauf	Erhaltene Ausbeute an Trihalogenalkohol Proz.	Trihalogenalkohol aus Estergemisch[1] Proz.	Gesamtausbeute an Trihalogenalkohol Proz.	Höher siedende Kondensationsprodukte Proz.
Chloral	Mg-Methylat			34	11,2	45,2	
	Al-Äthylat			52	16,0	68,0	
	„	Äther		64,4	6,2	70,6	
Chloral mit Acetaldehyd	Mg-Methylat		15,6	49,8			4,2
	Al-Äthylat		23,7	54,0	5,4	59,4	4,8
	„	Äther	19,5	65,4	14,17	79,57	3,1
	Al-Isoamylat			52,8	4,2	57,0	22,1
Bromal	Mg-Methylat			26			
	Al-Äthylat			43,2	28	71,2	
	„	Äther		59,2			
Bromal mit Acetaldehyd	Mg-Methylat		34,4	36,6			
	Al-Äthylat		1,2	61,5	23,8	85,3	
	„	Äther	2,0	87,9	9,4	97,3	
	Al-Isoamylat		1,4	51,0	8,3	59,3	

[1]) Vgl. hierzu die Regel von *S. Young*, Fractional Distillation, London 1903, S. 204, nach welcher auch ternäre Gemische quantitativ bestimmt werden können.

Über das Verhalten des Tribromäthylalkohols im Tierkörper.

Von

C. Endoh.

(Aus dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 6. September 1924.)

Der durch die voranstehende Untersuchung bequem zugänglich gewordene Tribromäthylalkohol hat die Lösung einer wichtigen Aufgabe in den Bereich der Möglichkeit gerückt. Seit fast über 20 Jahren finden wir Hinweise in der Literatur[1]) über die angebliche Existenz der Urobromalsäure, welcher Umstand auch auf das positive Referat im Chem. Zentralbl. **1903**, I, 781, zurückzuführen sein wird, in welchem die Annahmen der Originalarbeit als bewiesene Tatsachen betrachtet werden. Aber bei genauer Durchsicht der Angaben von *Maraldi*[2]) von dem die Schlußfolgerungen über die vermutete Existenz dieser Säure herrühren, konnten wir feststellen, daß die Urobromalsäure bisher *nicht* bekannt war.

Nach einer langwierigen und komplizierten Aufarbeitung menschlichen Harns, der nach Verabreichung von Bromal gesammelt worden ist, hat *Maraldi* per exclusionem den Schluß gezogen, daß das Bromal sich im Organismus in Urobromalsäure verwandelt.

In grundsätzlicher Übereinstimmung mit den Angaben von *Vitali*[3]) engte er den Harn erst auf die Hälfte seines Volumens ein, um dann mit Bleiacetat und Salmiak zu fällen. Der Niederschlag, in dem sich das Bleisalz der Urobromalsäure befinden soll, wurde nach gründlichem Auswaschen mit Wasser durch Schwefelsäure zersetzt und das nunmehr die freie Säure enthaltende Filtrat mit verdünnter Schwefelsäure am Rückflußkühler gekocht. Nach erfolgter Spaltung wurde Äthylalkohol in der üblichen Weise nachgewiesen.

Ich habe daher auf Veranlassung und unter Leitung von Herrn *Nord* und unter Nutzbarmachung der bequemen Anwendbarkeit des Tribrom-

[1]) *C. Neuberg*, Ergebn. d. Phys. **3**, I, 433, 1904; *C. Neuberg*, Der Harn, sowie die übrigen Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten. I, S. 439. Berlin 1911.

[2]) *G. Maraldi*, Bol. chim. Pharm. **42**, 81, 1903.

[3]) *D. Vitali*, ebendaselbst **38**, **377**, 1899.

äthylalkohols, welcher im Gegensatz zu Bromal bzw. Bromalhydrat vom tierischen Körper gut vertragen wird und per os eingeführt werden kann, versucht, die bisher ungeklärte Frage der Entstehung der Urobromalsäure im Organismus einer Lösung zuzuführen. Durch Einverleibung des im Wasser suspendierten Alkohols durch Schlundsonde in den Magen von Kaninchen bzw. durch Verabreichung des mit Fleisch vermengten Alkohols an Hündinnen konnte aus dem Harn dieser Tiere eine Substanz isoliert werden (s. später), die sich als die lang gesuchte *Urobromalsäure* erwies.

In Übereinstimmung mit der von *Fischer* und *Piloty*[1]) bzw. *Neuberg* und *Neimann*[2]) geäußerten Auffassung sind wir geneigt, der Säure eine Formulierung mit glykosidartiger Bindung:

$$\mathrm{COOH{-}COHO{-}\underset{}{CH}{-}CHOH{-}C.HO.CH_2CBr_3}$$
$$\text{(O-Brücke zwischen CH und C)}$$

zuzuschreiben, zumal das Reduktionsvermögen der ungespaltenen Säure gegenüber *Fehling*scher Lösung, infolge der gleichen Eigenschaft des Tribromäthylalkohols, auch angesichts der Formulierung nicht überrascht. Die Auffindung der Urobromalsäure ist um so bemerkenswerter, als bei dem geringen Kristallisationsvermögen vieler gepaarter Glykuronsäuren uns nur eine relativ kleine Zahl derselben genauer bekannt ist. Vielleicht war für die Bildung der Umstand nützlich, daß die für die Paarung unerläßliche Hydroxylgruppe bereits im verfütterten Tribromäthylalkohol präformiert war.

Die Urobromalsäure $C_8H_{11}O_7Br_3$, welche nach mehrfachem Herumprobieren in Anlehnung an die von *Nord*[3]) mitgeteilte Vorschrift aus dem Harn von Pflanzen- und Fleischfressern gewonnen wurde, kristallisiert aus Äther in schneeweißen Nadeln, ohne Kristallwasser, ist äußerst hygroskopisch, ihre wässerige Lösung reagiert gegen Lackmus stark sauer, reduziert *Fehling*sche Lösung, gibt positive Carbylaminreaktion und gespalten die Naphthoresorcinprobe, schmilzt scharf aber unter Zersetzung bei 145,5° C (unkorrigiert) und dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links.

$$[\alpha]_D^{23} = -79{,}09^0 \text{ (in wässeriger Lösung).}$$

Experimenteller Teil.

Um uns über die Eigenschaften der erwarteten Urobromalsäure einerseits zu orientieren, andererseits um Anhaltspunkte zu erhalten über die Neigung der Tiere, den Tribromäthylalkohol aufzunehmen, wurde im

---

[1]) *E. Fischer*, und *O. Piloty*, B. **24**, 522, 1891.

[2]) *C. Neuberg* und *W. Neimann*, H. **44**, 97, 1905.

[3]) *F. F. Nord*, d-Glykuronsäure und ihre Paarlinge, Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 5, S. 1975, Berlin und Wien 1922.

Vorversuch der Alkohol an eine größere Reihe von Kaninchen verfüttert. Es wurden pro Kilogramm Tier 0,5 g in Wasser suspendierter Alkohol durch eine Schlundsonde in den Magen der Kaninchen eingeführt. Die Untersuchung der im Laufe der nächsten Stunden gesammelten Harne zeigte gegenüber dem sonst alkalisch reagierenden Harn dieser Pflanzenfresser eine stark saure Reaktion und Linksdrehung. Der Harn reduzierte stark *Fehling*sche Lösung und gab nach der Behandlung mit Mineralsäuren eine positive Naphthoresorcinreaktion. Die Substanz, die die genannten Eigenschaften aufwies, ging beim Schütteln mit einem Gemisch von Alkohol und Äther in dieses über und war durch basisches Bleiacetat fällbar.

Um die Säure in Substanz zu erhalten, wurde folgendes Verfahren eingeschlagen. Einer Hündin, deren Körpergewicht etwa 40 kg betrug, wurden während 13 Tagen nach und nach 52 g Alkohol, der mit Fleisch vermengt war, verabreicht. Die Harnblase wurde jeweils vor beginnender Fütterung durch Katheterisierung entleert und die Harne in Zeiträumen von 24 Stunden gesammelt und getrennt unter Toluol aufbewahrt. Hierbei konnte festgestellt werden, daß 24 Stunden nach erfolgter Einfuhr des Alkohols die Harne in der Regel weder eine Linksdrehung, noch Reduktion gegenüber *Fehling*scher Lösung, noch die Naphthoresorcinreaktion zeigte. Die in 13 Tagen erhaltene Harnmenge betrug 5220 ccm und wurde unter vermindertem Druck bis auf 1500 ccm eingeengt. Hierauf wurde der eingeengte Harn mit einer Mischung bestehend aus 600 ccm Äther, 300 ccm 99proz. Alkohol und 30 ccm 50proz. Schwefelsäure kräftig geschüttelt und diese Extraktion so lange fortgesetzt, bis der Alkohol-Ätherextrakt *Fehling*sche Lösung nicht mehr reduzierte und keine Naphthoresorcinprobe gab. Es wurden auf diese Weise etwa 5000 ccm Alkohol-Ätherextrakt erhalten.

Nach der Filtration des Alkohol-Äthergemisches wurde der Äther im Vakuum abdestilliert und die alkoholische Lösung mit Barytwasser genau neutralisiert. Die vom entstandenen Bariumsulfat abfiltrierte Flüssigkeit wurde wiederum im Vakuum eingeengt und mit einer 25proz. Lösung von Bleiacetat gefällt. Nach der Trennung des nunmehr entstandenen voluminösen Niederschlages von der Flüssigkeit wurde der Niederschlag sorgfältig gewaschen und das mit den Waschwässern vereinigte Filtrat mit basischer Bleiacetatlösung versetzt. Der jetzt entstandene voluminöse Niederschlag wurde nach dem Abnutschen mit kaltem Wasser gut gewaschen und nach erfolgter Suspendierung in Wasser mit Schwefelwasserstoffgas zersetzt. Die vom ausgeschiedenen Schwefelbrei befreite und mit dem Waschwasser desselben vereinigte hellgelbe Flüssigkeit reagierte stark sauer und zeigte die Eigenschaft einer gepaarten Glykuronsäure. Das letzte Filtrat wurde im Vakuum bis auf etwa 300 ccm eingeengt, mit Barytwasser gegen Lackmus genau neutralisiert und filtriert. Die eine Hälfte des Filtrats wurde mit einer kalt gesättigten Kaliumsulfatlösung und die andere Hälfte mit einer kalt gesättigten Natriumsulfatlösung vorsichtig versetzt, bis durch Hinzufügen eines weiteren Tropfens der Salzlösung keine Bariumsulfatlösung mehr entstand. Auf die Vermeidung eines etwaigen Salzüberschusses wurde peinlichst geachtet. Nachdem beide Flüssigkeiten filtriert wurden, wurden sie im Vakuum auf ein ganz geringes Volumen gebracht und hierauf im Schwefelsäureexsikkator mehrere Tage sich selbst überlassen. Nachdem die Lösungen nach einiger Zeit gallertig wurden, begann die Kristallisation der Salze in Form von langen, sehr weichen, leicht zerdrückbaren, büschelförmig gruppierten Nadeln, wobei die Kristallisation des Natriumsalzes schwerer vor sich ging. Die Kristalle wurden abgenutscht

und auf einem Tonteller getrocknet. Sie reduzierten stark *Fehling*sche Lösung, gaben Halogen- und Carbylaminreaktion und nach dem Behandeln mit Mineralsäure die Naphthoresorcinprobe.

Die Isolierung der *freien* Säuren wurde aus dem Kaliumsalz als Ausgangsmaterial vorgenommen. Eine abgewogene Menge des Salzes wurde mit Hilfe der berechneten Menge normaler Schwefelsäure und der hierbei zur Ausscheidung gelangte Kristallbrei durch Hinzufügen von einigen Tropfen Wasser gelöst. Die Lösung wurde nunmehr über wenig Blutkohle filtriert, das Filtrat im Vakuum bis zur Trockne eingedampft und die zurückgebliebene Kristallmasse mit absolutem Alkohol extrahiert. Der erhaltene Alkoholauszug wurde hierauf nach Zusetzen von Wasser gleichfalls im Vakuum eingeengt und zuletzt im Exsikkator über Schwefelsäure der Kristallisation überlassen. Die nach einiger Zeit ausgeschiedenen nadelförmigen Kristalle wurden abgenutscht und auf einer Tonplatte getrocknet. Sie sinterten bei 70 bis 80° und ließen bei der Verbrennung auf dem Platinspatel eine Spur Asche zurück. Das nunmehr aus Wasser umkristallisierte Produkt wurde abermals aus absolutem Äther umgelöst. Nach erfolgter Verdunstung der Lösung und längerem Stehenlassen im Eisschrank schieden sich schnell weiße, nadelförmige Kristalle ab. Sie waren äußerst hygroskopisch, ihre wässerige Lösung reagierte gegen Lackmus stark sauer und drehte die Ebene des polarisierten Lichtes nach links, reduzierten stark *Fehling*sche Lösung, gaben die Brom- und Carbylaminreaktion. Nach einer abermaligen Umkristallisation aus absolutem Äther und Trocknen der erhaltenen Kristalle bei 40° im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz, was mehrere Wochen in Anspruch genommen hat, schmolzen sie scharf bei 145,5° unter Zersetzung.

0,0668 g Substanz	0,0663 g CO_2	0,241 g H_2O
0,1155 g ,,	0,0917 g CO_2	0,0343 g H_2O
0,1269 g ,,	0,1423 g AgBr	
0,1375 g ,,	0,1559 g AgBr	

$C_8H_{11}Br_3O_7$ (459).	Ber.:	52,25 Proz. Br	20,92 Proz. C	2,41 Proz. H
	Gef.:	49,58 ,, Br	20,99 ,, C	4,22 ,, H
	,,	50,91 ,, Br	21,67 ,, C	3,29 ,, H

Angesichts der äußerst starken Hygroskopizität und leichten Zersetzlichkeit stimmen die Analysen befriedigend. Die optische Drehung ($\alpha = -0,429^0 \ldots l = 1$ dm $\ldots c = 0,5424$ g) betrug

$$[\alpha]_D^{23} = -79,09^0 \text{ (in wässeriger Lösung).}$$

Die Säure löst sich leicht in Alkohol, Aceton, nicht schwer in Essigester und schwer in Tetralin und Dekalin. Sie ist unlöslich in Benzol und Chloroform.

Spaltungsversuch.

5 g Natriumurobromalat (roh) wurden mittels 1proz. Schwefelsäure hydrolysiert und mit Natriumcarbonat bis zur schwachsauren Reaktion versetzt. Die eine Hälfte der Flüssigkeit wurde mit Äther ausgeschüttelt. Der nach dem Verjagen des Äthers im Wasser aufgelöste Ätherextrakt zeigt positive Phenylcarbylaminreaktion und reduziert übereinstimmend mit früheren Beobachtungen (s. oben) *Fehling*sche Lösung in der Wärme, gibt aber weder die Naphthoresorcinprobe, noch irgendeine optische Drehung. Die extrahierte Flüssigkeit wurde über Kohle filtriert und im Vakuum

bis auf 50 ccm eingeengt. Sie drehte die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts, $\alpha = + 0{,}23^0$, reduzierte *Fehling*sche Lösung in der Kälte, gibt positive Naphthoresorcinreaktion, aber keine Carbylaminprobe. Entsprechend einem Gehalt von 1 g freier Glykuronsäure beträgt die Drehung $[\alpha]_D^{20} = + 23^0$ ($l = 0{,}5$, $c = 2$). Das Fortschreiten der Spaltung wird durch folgende Tabelle wiedergegeben:

Nach zweistündigem Kochen	. . . .	= − 0,33
„ vierstündigem „	. . . .	= − 0,23
„ sechsstündigem „	. . . .	= − 0,13
„ achtstündigem „	. . . .	= ± 0
„ zehnstündigem „	. . . .	= + 0,23

Durch diese Versuche ist der Nachweis erbracht, daß der Tribromäthylalkohol im Organismus sich mit der d-Glykuronsäure paart und aus dem Organismus in Form von Urobromalsäure ausgeschieden wird.

Beitrag zum Permeabilitätsproblem[1].

Von

P. György.

(Aus der Heidelberger Kinderklinik.)

(*Eingegangen am 6. September 1924.*)

Die ungleiche Verteilung der im Blute befindlichen Ionen auf die Blutkörperchen und auf das Serum wird gewöhnlich mit einer spezifisch-permeablen Zellmembran erklärt. In der neueren Zeit mehren sich die Stimmen, die die verschiedene Zusammensetzung des Plasmas und der Blutzellen weniger als ein Membran-, vielmehr aber als ein Phasenproblem betrachten. Die bei Erhöhung der Blutacidität beobachtete Cl- und HCO_3-Verschiebung war mit dieser Auffassung gut in Einklang zu bringen. Es fehlte aber bisher an Versuchen, die sich mit den Kationen vom gleichen Gesichtspunkt aus befaßt hätten. Im letzten Hefte dieser Zeitschrift (Bd. 150) berichten nun *Rona*, *Petow* und *Wittkower* über dieser Fragestellung gewidmete Untersuchungen. Ihre Veröffentlichung veranlaßt mich zu einer vorläufigen Mitteilung von zum Teil schon länger zurückliegenden und abgeschlossenen Versuchen.

Die von mir verfolgte Versuchsanordnung deckt sich fast völlig mit dem von *Rona*, *Petow* und *Wittkower* angegebenen Verfahren. Die Unterschiede beziehen sich auf nebensächliche Punkte. So erfolgte bei meinen Versuchen die Trennung zwischen Serum und Blutkörperchen fast ausnahmslos nur durch scharfes Abzentrifugieren und ohne Waschen der Blutzellen, das möglicherweise — wofür verschiedene Literaturangaben (*Brinkman* u. a.) sprechen — zu einer Zellschädigung führen könnte. Für unsere Fragestellung stellte aber freilich auch das Waschen, wie das aus dem zu diesem Zwecke angestellten Versuch 7 klar hervorgeht, keinen störenden Faktor dar. Die scharf abzentrifugierten, abpipettierten Blutkörperchen wurden mittels Saponins hämolysiert. Zur Dialyse wurden kleine Kollodiumhülsen verwendet. Das System bestand aus gleichen Mengen Blutkörperchenbrei als Innen- und Serum als Außenflüssigkeit. In einigen Versuchen wurden sowohl das Serum als auch der Blutkörperchenbrei mit destilliertem Wasser doppelt verdünnt. Zur Bestimmung gelangte das Ca (nach *Kramer*, *Tissdall*), der anorganische Phosphor (nach *Briggs*) und das Cl (nach *Rusznyák*).

---

[1]) Zugleich weiterer Beitrag zur Kalkbindung durch tierische Gewebe.

Auf Messung der H-Ionenkonzentration mußte aus äußeren Gründen verzichtet werden.

Wie aus den untenstehenden Tabellen eindeutig hervorgeht, bleibt die ungleiche Ca- und P-Verteilung zwischen Serum und Blutkörperchen auch in hämolysiertem Zustande der letzteren — bei Zwischenschaltung einer Kolloidmembran — fast unverändert bestehen. So gelangte ich zu den gleichen Resultaten wie *Rona*, *Petow* und *Wittkower* in ihrer erwähnten Mitteilung. Die Blutart war ohne Einfluß (untersucht wurden Proben von Rind, Hammel, Schwein). Die *Verdünnung* des Dialysiersystems ermöglicht einen meist gut ausgeprägten Ausgleich in der ungleichen Ca-Verteilung. Die Verhältnisse für den anorganischen Phosphor werden durch Abspaltung und Neuhinzukommen von Phosphationen aus den bekannten organischen Phosphorverbindungen kompliziert[1]).

	Serum mg-Proz.			Blutkörperchenbrei mg-Proz.		
	Ca	P	NaCl	Ca	P	NaCl
1. Versuch (Rinderblut).						
Ohne Dialyse	9,8	6,3	597	3,6	5,7	369
Nach „	10,0	6,9	520	3,3	4,2	—
2. Versuch (Rinderblut).						
Ohne Dialyse	9,6	5,9	666	2,6	2,0	380
Nach „ (Probe a) .	9,8	5,9	638	3,4	2,4	410
„ „ (Probe b) .	9,3	5,9	600	3,4	2,2	415

	Serum mg-Proz.		Blutkörperchenbrei mg-Proz.	
	Ca	P	Ca	P
3. Versuch (Rinderblut).				
Ohne Dialyse	9,6	4,4	2,0	3,0
Nach „	9,2	4,5	2,0	2,4
4. Versuch (Rinderblut).				
Ohne Dialyse	9,5	4,4	2,0	2,6
Nach „	9,2	4,6	1,6	2,3
5. Versuch (Rinderblut).				
Ohne Dialyse	9,6	4,4	2,0	3,0
Nach „ (Probe a) . . .	9,2	4,4	2,2	2,1
„ „ (Probe b) . . .	10,0	4,6	1,8	2,2
6. Versuch (Rinderblut).				
Ohne Dialyse	10,5	7,0	2,2	4,6
Nach „	9,0	9,2	3,0	4,8
„ „ u. vorher mit dest. Wasser 1/2 verdünnt . . .	6.8	9,0	6,4	7,0

[1]) Saponinzusatz allein erwies sich in Kontrollversuchen sowohl auf die P- wie auch auf die Ca-Bestimmung ohne Einfluß.

	Serum mg-Proz.		Blutkörperchenbrei mg-Proz.	
	Ca	P	Ca	P
7. Versuch (Kalbsblut).				
Ohne Dialyse	9,6	4,6	1,4	3,5
Nach „	9,0	4,7	1,8	3,5
Blutkörperchen vor dem Saponinzusatz mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen.				
8. Versuch (Schweinsblut).				
Ohne Dialyse	9,2	6,1	0,9	18,0
Nach „	8,2	10,8	1,4	13,5
„ „ u. vorher mit dest. Wasser $^1/_2$ verdünnt . .	6,7	12,6	3,6	12,2

	Serum mg-Proz.			Blutkörperchenbrei mg-Proz.		
	Ca	P	NaCl	Ca	P	NaCl
9. Versuch (Kalbsblut).						
Ohne Dialyse	11,5	4,6	561	—	3,6	374
Nach „	11,2	4,7	520	—	3,5	393
„ „ u. vorher mit dest. Wasser $^1/_2$ verd.	10,2	4,7	507	—	4,0	436
10. Versuch (Hammelblut).						
Ohne Dialyse	11,3	5,4	626	2,8	4,1	404
Nach „	9,3	5,5	544	4,2	4,1	433
„ „ u. vorher mit dest. Wasser $^1/_2$ verd.	8,4	5,5	518	6,0	5,2	433

Die beobachtete Cl-Verschiebung dürfte mit der durch die Hämolyse bedingten Erhöhung der H-Ionenkonzentration in Beziehung zu bringen sein und entspricht somit einer allgemein anerkannten Forderung.

So kommen wir auf Grund von unabhängig geführten Versuchen zu der gleichen Schlußfolgerung wie *Rona*, *Petow* und *Wittkower*: „Die Annahme einer für Ca undurchdringlichen Zellmembran ist für die Erklärung der Tatsache, daß sich in den Blutkörperchen so viel weniger Ca findet als im Serum, nicht unbedingt notwendig.“ Interessanterweise ist die gleiche Schlußfolgerung auch für den anorganischen Phosphor zulässig. Andererseits legen unsere Verdünnungsversuche den Schluß nahe, daß für das Zustandekommen des die Ionenverteilung bestimmenden Donnangleichgewichts neben der physiko-chemischen Verschiedenheit der Zell- und Serumeiweißkörper auch der Trockensubstanzgehalt der beiden Phasen mit zu berücksichtigen ist.

Zur Theorie der Ca-Ionisation in der Blutflüssigkeit.

Erwiderung auf die Arbeit von *Julius Holló* in dieser Zeitschr. **150**, 496.

Von

P. György (Heidelberg).

(Eingegangen am 6. September 1924.)

Im Rahmen einer klinischen Arbeit (Jahrb. f. Kinderheilk. **99**) wurde von mir die Ansicht geäußert, daß die Ionisationsverhältnisse des Kalkes in den Gewebsflüssigkeiten durch die HCO_3- und H-Ionen allein nicht erschöpfend bestimmt werden, vielmehr auch die Phosphationen mit zu berücksichtigen sind. Da ich — wie *Holló* — damals von der Aussichtslosigkeit einer mathematisch und physiko-chemisch exakten Fassung einer Ionisationsgleichung für den Blut- (Gewebssaft) Kalk überzeugt war, vermied ich jede theoretische Auseinandersetzung und stützte mich neben elementarchemischen Anschauungen auf rein klinisch experimentelle Tatsachen, die meines Erachtens die Berücksichtigung des Phosphations für unseren Fall dringend erheischten. Die *absichtliche* Vernachlässigung physikochemischer Gedankengänge ergibt sich aus dem Wortlaut meiner Arbeit mit einer nicht zu mißverstehenden Klarheit. Die von *Holló* mir zugeschriebene Gleichung $Ca = k \cdot \frac{H^{\cdot}}{HPO_4''}$ habe ich in *keiner* meiner Arbeiten veröffentlicht. Hätte ich diese beanstandete Gleichung verwendet, so wäre ich nicht zu der Formel $Ca = k \cdot \frac{H^{\cdot}}{HPO_4'' \,.\, HCO_3'}$, sondern zu $[Ca'']^2 = k \cdot \frac{H^2}{HPO_4'' \,.\, HCO_3'}$ gelangt. Meine Gleichung dient ausschließlich *qualitativen* Zwecken, wie ich das, um Mißverständnisse zu vermeiden, seither des öfteren ausdrücklich festgestellt habe, obgleich der Sinn meiner ersten diesbezüglichen Veröffentlichung kaum anders zu deuten war. Die Gleichung stellt nur die allgemein bekannte Tatsache fest, daß H-Ionen in ihrer Menge sich mit den Ca-Ionen symbat, den HCO_3- und HPO_4-Ionen dagegen antibat verhalten. Eine mathematische Exaktheit war nicht beansprucht. Seither hat *Freudenberg* auf Grund von Messungen sowohl in einem auf dem Kongreß für innere Medizin erstatteten Referat[1]), wie auch in einer mit *Budde* veröffentlichten Arbeit[2]) ausdrücklich festgestellt, daß die Bestimmung der Ca-Ionenkonzentration im Blute „*nach Formeln vorläufig als unmöglich anzusehen ist*".

Auch diese kurzen Bemerkungen sollen mich nicht verleiten, auf die Frage einzugehen, ob die *Rona*sche Formel auf die Blut- und Gewebsflüssigkeit *quantitativ* anwendbar sei. Aus neueren umfangreichen theoretisch-experimentellen Betrachtungen, die wir *Kugelmass* und *Shohl* (Journ. f.

[1]) Mehrere Monate vor dem Einsendungstermin der Arbeit von *Holló*.

[2]) Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **42**, 1924.

biol. Chem. 57, 1924) verdanken, geht die Wichtigkeit der Berücksichtigung der Phosphate hervor. Die Ableitungen dieser Autoren decken sich dem Sinne nach *völlig* mit meiner qualitativen Formel, wobei ich freilich wiederum offen lassen müßte, ob sie nun die letzte Klärung in dieser komplizierten Frage erbracht haben.

Wenn also *Holló* die Behauptung aufstellt, daß eine mathematisch exakte Fassung heute noch verfrüht ist, so spricht er nur die von mir schon ursprünglich vertretene Meinung aus. Andererseits verlangen die verschiedenen in meinen früheren Arbeiten zusammengestellten klinisch-experimentellen Tatsachen, wie auch die oben erwähnten Untersuchungen gebieterisch die *qualitative* Berücksichtigung der durch das Phosphation ergänzten Ronaformel. In welchem Sinne dies gemeint ist, möge aus dem Folgenden hervorgehen: Würden wir dem im Gleichgewicht befindlichen Ronasystem tertiäres Calciumphosphat als weiteren Bodenkörper zufügen, so hätten wir als Folge zu erwarten: Lösung von Ca- und sekundären Phosphationen entsprechende Bindung von H-Ionen, also Abnahme der aktuellen Acidität der Lösung, endlich Fällung von Calciumcarbonat bis zur Wiederherstellung der verursachten Störung des Carbonatcalciumgewichts. Wir würden dann die Ca-Ionenkonzentration, wie dies *Holló* richtig ausführt, im endgültig vorliegenden Gleichgewicht sowohl durch die *Rona*sche, wie eine entsprechende Phosphatformel, wie durch eine beide Ionenarten umfassende Formel definieren können. Diese Feststellung hat aber nichts zu tun damit, wie dieses Gleichgewicht nun etwa durch hinzutretende Bicarbonat- oder Phosphationen beeinflußt wird. *Diese dynamische Frage ist klinisch-physiologisch sehr viel wichtiger als die Frage der exakten Definition des* **stabilen** *Gleichgewichts selbst, die wir mit Holló und Freudenberg im Blute vorläufig für unlösbar halten.* Die Untersuchungen von *Kugelmass* und *Shohl*, von *Behrendt*, sowie die erwähnten Messungen von *Freudenberg* und *Budde* zeigen, daß in dieser Hinsicht der Einfluß des Phosphats sich bei weit geringeren absoluten Konzentrationsverschiebungen geltend machen muß als der des Bicarbonats. In diesem Sinne halte ich meine qualitative Formel, die auf die Bedeutung des Phosphats hinweist, für brauchbar[1]).

Zusammenfassend muß ich folgendes feststellen:

1. Die von mir aufgestellte Gleichung dient nur qualitativen Zwecken, als solche ist sie auch weiterhin als brauchbar anzuerkennen.

2. Die Berücksichtigung des Phosphations wird — im Gegensatz zu *Holló* — in komplizierten Systemen, wie auch im Blute, nicht als „überflüssig" betrachtet[2]).

---

[1]) Auch die Berücksichtigung der Ca-Pufferung im Blute nach *Kugelmass* und *Shohl* steht in gutem Einklang mit diesen Anschauungen.

[2]) Da die *Rona*sche Formel aus dem Massenwirkungsgesetz abgeleitet ist, so muß sie *dem Sinne nach* stets, d. h. auch für Systeme ohne Bodenkörper und für ungesättigte Kalklösungen gelten soweit das Massenwirkungsgesetz gültig bleibt. Vgl. auch die stets reproduzierbaren Messungsergebnisse von *Freudenberg-Budde.* Die möglichen Einwände können wiederum nur die *quantitative* Seite der Anwendbarkeit berühren.

Untersuchungen über den Mineralstoffwechsel bei Zuckerkranken.

II. Mitteilung:

Über Störungen des intermediären Calcium- und Chlorstoffwechsels.

Von

Robert Meyer-Bisch und **Franz Günther.**

(Aus der medizinischen Klinik der Universität Göttingen.)

(Eingegangen am 8. September 1924.)

A. Der intermediäre Kalkstoffwechsel.

In einer früheren Mitteilung[1]) ist gezeigt worden, daß beim Diabetiker durch die perorale Zufuhr von Natronbicarbonicum in Mengen, wie sie in der Therapie des acidotischen Diabetikers gebräuchlich sind, eine vorübergehende Senkung des Calciumspiegels erzielt werden kann; diese Abnahme des Blutkalkgehaltes trat auch ein, ohne daß eine erhebliche Acidosis, gemessen an der Alkalireserve, bestand. Bei Kontrolluntersuchungen an Normalen blieb jegliche Veränderung in der Regel aus. Die erwähnten Versuchsergebnisse ließen daran denken, beim Diabetiker eine spezifische, mit der Veränderung des Kohlehydratstoffwechsels zusammenhängende Störung des intermediären Kalkstoffwechsels anzunehmen. Im Gegensatz zu älteren Beobachtungen, die beim Diabetiker eine Störung der Kalkbilanz gefunden, diese aber lediglich auf eine bestehende Acidosis zurückgeführt hatten [*Gerhardt* und *Schlesinger*[2])], erschien der Umstand von Wichtigkeit, daß die genannte Wirkung von Natronbicarbonicum in derselben deutlichen Weise auch bei solchen Zuckerkranken eintrat, bei denen eine weitergehende Störung durch Hinzutreten einer Acidosis noch nicht in nennenswertem Maße nachzuweisen war. Ein endgültiger Aufschluß über die Bedeutung der Acidosis konnte durch Feststellung des spontan gefundenen Blutkalkgehaltes nicht erhalten werden, da dieser in den meisten Fällen normalen Wert zeigte. Eine gewisse Eigentümlichkeit ließ sich nur insofern erkennen, als die gefundenen Werte fast stets an der oberen Grenze der Norm lagen und sich gelegentlich sogar etwas darüber bewegten.

Aus diesem Grunde wurde versucht, das Verhalten des intermediären Kalkstoffwechsels bei plötzlicher Belastung des Organismus

[1]) *Robert Meyer-Bisch* und *Paul Thyssen*, diese Zeitschr. **185**, 308.
[2]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **42**, 83.

mit größeren Zuckermengen zu beobachten. Auf diese Weise erschien es möglich, eine vorher latente Störung durch künstliche Steigerung der Stoffwechselvorgänge manifest werden zu lassen.

Im Hinblick auf die bekannte Tatsache, daß die Wirkung der beiden gebräuchlichen Monosaccharide, Lävulose und Dextrose, auf den Kohlehydratstoffwechsel eine durchaus nicht gleichartige ist, und auf Grund von früheren Untersuchungen, die diesen Wirkungsunterschied der beiden Zuckerarten in bestimmten Beziehungen erweitert haben, führten wir diese Belastung nicht nur mit Dextrose, sondern auch mit Lävulose aus.

Die Untersuchungen ergaben in der Tat, daß durch *Zufuhr großer Zuckermengen ganz charakteristische Veränderungen des Blutkalkgehaltes hervorgerufen werden. Diese Fähigkeit kommt jedoch nur der Lävulose zu*, während *Dextrose* den *Blutkalkspiegel unbeeinflußt* läßt. Außerdem ist diese *Störung des intermediären Calciumstoffwechsels für den Diabetiker, auch für den nicht acidotischen, spezifisch, denn sie kommt beim Normalen nicht vor.*

Im folgenden soll über die Versuche, die zu dieser Auffassung geführt haben, eingehender berichtet werden:

Es kamen 14 Fälle zur Untersuchung. Die befolgte Methodik war folgende: Bei dem Patienten wurde in nüchternem Zustande der Gehalt des Blutes an Hämoglobin, Erythrocyten und der des Serums an Eiweiß, Zucker und Kochsalz bestimmt. Während diese Untersuchungen im Kapillarblut vorgenommen wurden, wurde zur Feststellung des Calciumgehaltes ein Aderlaß ausgeführt und die Analyse nach der *de Waard*schen Methode im abgepreßten Serum angestellt. In einem Teile der Fälle wurden außerdem noch bestimmt: Volumengehalt der Erythrocyten nach *Bönniger*, Alkalireserve nach *van Slyke* und Schwefelsäure nach der Methode von *Heubner* und *Meyer-Bisch*. Im Anschluß an diese Feststellung der Normalwerte wurden 100 g Dextrose oder Lävulose per os verabreicht und danach in bestimmten Zwischenräumen die Blutentnahme wiederholt.

Aus äußeren Gründen konnte natürlich der Calciumgehalt, da hierzu jedesmal ein Aderlaß notwendig war, nur in begrenzter Häufigkeit bestimmt werden; in der Regel geschah dies 15 bis 30 Minuten nach der Zuckeraufnahme und dann zum dritten Male am Morgen des ersten Nachtages, also 24 Stunden später in nüchternem Zustande. Dasselbe gilt auch für die Bestimmung von Schwefelsäure und Alkalireserve. Die im Kapillarblut möglichen Bestimmungen wurden wesentlich häufiger angestellt, und zwar gewöhnlich mehrmals in den ersten 2 Stunden nach der Verabreichung und weiterhin fortlaufend an mehreren Nachtagen bei nüchternem Zustande des Patienten. In der Mehrzahl der Fälle wurde gleichzeitig Körpergewicht, ferner das Verhalten der Kochsalz- und Wasserbilanz beobachtet.

Fall 1. *Franz K.*, 34jähr. Mann. Am 31. Oktober 1923 betrug der Gehalt des Blutes an Hämoglobin 91 Proz., Serumeiweißgehalt 8,37 Proz. Blutkochsalz betrug 0,57 Proz., Blutzucker 0,34 Proz. Der Calciumgehalt war 12 mg-Proz., die Alkalireserve 64 Proz. Im Urin weder Aceton- noch Acetessigsäure.

15 Minuten nach der Aufnahme von 100 g Lävulose betrug der Calciumgehalt des Serums 14 mg-Proz., war also 2 mg höher als vorher. Die übrigen Werte zeigten keine besondere Veränderung. Zu erwähnen ist nur, daß Serumeiweißgehalt und Hämoglobin deutliche Abnahme zeigten, die Erhöhung des Calciumgehaltes ist daher nicht als Folge einer Eindickung zu bezeichnen. Der Blutzucker stieg unter dem Einfluß der Lävulose im Verlauf von 2 Stunden bis zum Höchstwerte von 0,40 mg-Proz.

Fall 2. *Br.*, 31 jähr. Diabetiker. In den Tagen vor dem 19. Dezember, dem Tage der Anstellung des Versuchs, bestand noch eine leichte Glykosurie zwischen 0,5 und 0,9 Proz. bei Zufuhr von 50 g Brot. Acetessigsäure fehlte im Harn vollkommen, Aceton war nur in Spuren vorhanden. Alkalireserve 50 Proz. Am Morgen des Versuchstages belief sich der Gehalt an Hämoglobin auf 96 Proz., der an Serumeiweiß auf 7,57 Proz.; NaCl-Gehalt 0,59 Proz.; Blutzucker 0,29 mg-Proz.; Calcium 14,8 mg-Proz.; Gesamtschwefelsäure 34 mg-Proz.

15 Minuten nach Verabreichung von 100 g Lävulose per os stieg der Blutcalciumgehalt von dem Vorwert von 14,8 auf 16,4 mg-Proz. Über die übrigen Werte ist nur zu bemerken, daß der Blutzuckerwert auf 0,40 Proz. anstieg. Die Alkalireserve blieb unverändert; der Schwefelsäuregehalt des Blutes ging auf 22 mg-Proz. herunter (Tabelle I).

Am Morgen des nächsten Tages betrug der Blutcalciumgehalt wieder 14,8 mg-Proz. Auch die übrige Zusammensetzung entsprach annähernd der der Vorperiode.

Fall 3. *Hermann D.*, 29 jähr. Mann. In den Tagen vor dem Versuche, der am 9. Januar ausgeführt wurde, bestand bei strenger Diät eine deutliche, aber nicht sehr starke Acetonurie. Die Probe auf Acetessigsäure war schwach positiv. Die Glykosurie schwankte zwischen 1 und 3 Proz. Alkalireserve im Blute 62 Proz. 20 Minuten nach Zuführung von 100 g Lävulose betrug der Blutcalciumgehalt, der vorher auf 12,7 Proz. sich belief, 13,8 mg-Proz. Der Blutzucker stieg in dieser Zeit von 0,22 auf 0,32 an, der Serumeiweißgehalt von 6,21 auf 6,83 Proz. Die Alkalireserve blieb unverändert.

Fall 4. *S.*, 30 jährig. Einlieferung am 9. Februar 1923 in komatösem Zustande. Alkalireserve 15 Proz. Am 21. Februar war der Zustand sehr wesentlich gebessert; die Alkalireserve war auf 68 Proz. gestiegen. Acetessigsäure und Aceton wurden noch in deutlichen, aber nicht sehr erheblichen Mengen ausgeschieden. An diesem Tage wurde Belastung mit 100 g Lävulose ausgeführt. Auch bei diesem Patienten stieg danach das Blutcalcium in 15 Minuten von 11,4 auf 12,4 mg-Proz. Die Alkalireserve ging auf 64 Proz. herunter; der Schwefelsäuregehalt blieb im wesentlichen unverändert. Auch die übrigen Werte erfuhren in dieser Zeit, abgesehen von einer Zunahme des Serumeiweißes um 0,67 Proz., keine charakteristischen Veränderungen. Am 28. Februar, also 7 Tage später, betrug der Blutcalciumgehalt wieder 11,2 mg-Proz.

Fall 5. *A.* Es handelt sich dabei um einen zwar bejahrten Diabetiker, der aber trotzdem bei der am 22. Februar 1923 erfolgten Aufnahme Anzeichen schwerer Acidosis zeigte, indem sowohl Aceton als auch Acetessigsäure in großen Mengen ausgeschieden wurden und die Alkalireserve auf 43 Proz. herabgesetzt war. Die am 27. Februar vorgenommene Belastung mit 100 g Lävulose bewirkte einen Anstieg des Blutcalciumgehaltes von 10,7 auf 12,8 mg-Proz. Besondere Veränderungen in der übrigen Blutkonzentration traten nicht auf; nur der Blutzucker stieg, wie das bei der Schwere des Diabetes nicht zu verwundern war, von 0,26 auf 0,39 Proz.

Die Serumschwefelsäure betrug 47 und 33 mg-Proz. Bei diesem Patienten wurde am 23. Februar, also *vor* der Lävulosebelastung, die Wirkung peroraler Zufuhr größerer Kochsalzmengen auf den Blutgehalt untersucht. 2 Stunden nach 20 g NaCl per os war der Calciumgehalt von 12,8 auf 10,8 Proz. gesunken; in derselben Zeit stieg Serum NaCl von 0,58 auf 0,63 Proz. Das Serumeiweiß sank von 6,77 auf 6,36 Proz. Der Blutzucker blieb unverändert.

Dieser Versuch zeigt, daß die Verminderung des Blutcalciumgehaltes nicht nur durch Natronbicarbonicum, sondern auch NaCl erzielt werden kann. Es scheint sich demnach bei den in einer früheren Arbeit beschriebenen Veränderungen nach Zufuhr von Natronbicarbonicum nicht um eine Salzwirkung, sondern um eine Kationenwirkung zu handeln.

Fall 6. *Gr.* Sehr schwerer, jugendlicher Diabetes. Einlieferung am 27. August 1923 im Zustande hochgradiger Acidosis. Bis zum 22. Nov. war der Zustand so weit gebessert, daß keine nennenswerte Acidosis mehr bestand. Urin frei von Aceton und Acetessigsäure. Alkalireserve 57 Proz., lag also an der unteren Grenze der Norm. Die an diesem Tage vorgenommene Belastung mit Lävulose bewirkt einen Anstieg des Blutcalciumspiegels von 14,8 auf 16 mg-Proz. Der Blutzucker stieg in derselben Zeit von 0,35 auf 0,39 Proz. Am Morgen des nächsten Tages betrug der Blutcalciumgehalt wieder 15,0 mg-Proz.

Am 27. November wurde mit Dextrose in derselben Weise wie vorher mit Lävulose belastet. Sowohl 30 Minuten nach Verabreichung des Zuckers als auch am nächsten Morgen zeigte der Blutcalciumgehalt denselben Wert wie den im nüchternen Blute

Tabelle I. Br., 31 jähriger Diabetiker.

Datum	Zeit	Hb	Serum alb.	Erythrocyten	NaCl	Zucker	Ca	CO_2	H_2SO_4 Serum freie	Serum geb.	Serum ges.	Blut freie	Blut geb.	Blut ges.	Diurese	Urin = NaCl Proz.	Urin = NaCl ges.	Körpergewicht morg.	Körpergewicht abends
18. XII.		94	7,63	5,10	0,58	0,25	—	—	—	—	—	—	—	—	2700	0,50	13,50	60,50	60,9
19. XII.									100 g Lävulose per os.										
19. XII.		96	7,57	4,64	0,59	0,29	14,8	50	31	3	34	50	10	60	3520	0,70	24,64	60,0	—
19. XII.	15' post	97	7,76	5,27	0,56	0,40	16,4	50	16	6	22	25	45	70	—	—	—	—	—
19. XII.	60 "	95	7,65	5,23	0,56	0,39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19. XII.	120 "	90	7,31	5,03	0,58	0,33	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19. XII.	abends	96	7,63	5,20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	60,0
20. XII.		90	7,61	4,95	0,58	0,31	14,8	—	—	—	—	—	—	—	1440	2,20	31,68	59,6	61,5
21. XII.		77	6,34	4,51	0,63	0,24	—	—	25	3	28	—	—	—	2340	—	—	61,3	62,0

Tabelle II. Si.

Datum	Zeit	Hb	Serum-albumin	NaCl	Zucker	Ca	CO_2	Diurese	Urin = NaCl		Körpergewicht	
									ges.	Proz.	morgens	abends
29. XI.		60	7,37	0,59	0,32	—	—	3000	42,0	1,40	61,0	62,0
30. XI.		57	7,91	0,63	0,37	12,0	44	3200	35,2	1,10	60,0	—
100 g Lävulose per os.												
30. XI.	15' post	63	7,70	0,62	0,45	18,0	44	—	—	—	—	—
30. XI.	60 „	59	7,35	0,59	0,55	—	—	—	—	—	—	—
30. XI.	120 „	59	7,01	0,61	0,54	—	—	—	—	—	—	61,0
1. XII.		55	7,50	0,61	0,30	11,7	—	3200	14,4	0,45	60,0	61,0
3. XII.		60	7,89	0,59	0,40	—	—	3700	24,8	0,88	59,5	60,0
4. XII.		64	7,70	0,58	0,38	—	—	2900	29,0	1,00	58,0	60,0
5. XII.		61	—	0,59	0,38	—	—	2600	18,9	0,70	58,2	60,0
6. XII.		64	7,48	0,58	0,40	—	—	2500	26,8	1,07	58,0	60,0
7. XII.		64	7,42	0,55	0,39	11,7	56	2600	19,8	0,76	58,5	—
100 g Dextrose per os.												
7. XII.	25' post	73	7,74	0,55	0,65	12,0	49	—	—	—	—	—
7. XII.	60 „	66	7,31	0,54	0,65	—	—	—	—	—	—	—
7. XII.	120 „	61	7,31	0,54	0,61	—	—	—	—	—	—	60,5
10. XII.		60	7,61	0,57	—	12,0	—	2200	22,2	1,01	58,5	60,5
11. XII.		60	7,20	0,58	0,27	—	—	2800	30,8	1,01	58,5	60,5
12. XII.		65	7,72	0,54	0,33	—	—	2600	25,4	0,97	58 5	60,0

des Versuchstages gewonnenen. Im Gegensatz zu Lävulose blieb also hier Dextrose ohne jeden Einfluß.

Der Blutzucker zeigte jetzt eine wesentlich stärkere Zunahme wie nach Lävulose; er betrug nach 30 Minuten 0,50 Proz., nach 80 Minuten 0,62 Proz. Die übrigen Blutwerte änderten sich in dieser Zeit nicht wesentlich.

Fall 7. Der als Fall 4 erwähnte Patient kam im November 1923, also 9 Monate später, erneut zum Versuch, nachdem er im Laufe des Sommers seinem Beruf nachgegangen war. In dieser Zeit hatte sich sein Zustand insofern verschlimmert, als jetzt die Acidosis wieder wesentlich deutlicher war. Am 30. November, dem Tage der Lävulosebelastung, war die Ausscheidung von Acetessigsäure und Aceton sehr stark. Die Alkalireserve war mit 44 Proz. wesentlich niedriger als beim ersten Versuch. Trotz dieser Veränderung und der Schwere des Krankheitsbildes war die Wirkung der Lävulose auf den Blutkalkgehalt die gleiche; auch jetzt trat 15 Minuten nach Zufuhr von 100 g der genannten Zuckerart ein Anstieg des Serumcalciumspiegels von 12,0 auf 13,0 mg-Proz. ein, der am Morgen des nächsten Tages sich wieder vollkommen ausgeglichen hatte. Der Blutzucker stieg nach Lävulose zunächst von 0,37 auf 0,45 Proz., vermehrte sich 1 Stunde später noch weiter auf 0,55. Im übrigen traten im Blute keine wesentlichen Veränderungen ein (Tabelle II).

Am 7. Dezember wurde bei im wesentlich unveränderten Zustande der analoge Versuch mit Dextrose ausgeführt. Der Blutkalkgehalt von 11,7 mg-Proz., den die Blutuntersuchung im nüchternen Zustande an diesem Tage ergab, wurde durch die Zufuhr von Dextrose nicht beeinflußt; sowohl 25 Minuten als auch 2 Tage später war der Wert für das Blutcalcium 12,0 mg-Proz. Der Blutzucker stieg dabei während der ersten 2 Stunden auf über 0,6 Proz.

Fall 8. *Kl.*, 30jähriger Mann. Einlieferung am 3. Januar 1924. Ausführung des Belastungsversuchs mit Lävulose am 10. Januar 1924. Es bestand an diesem Tage noch eine deutliche Acetonurie. Alkalireserve 50 Proz.; Blutzucker 0,38 Proz. Blutkochsalz war mit 0,54 Proz. deutlich erniedrigt. 15 Minuten nach Lävulosezufuhr stieg der Calciumgehalt des Blutes von 10,6 auf 11,6 mg-Proz. Der Blutzucker zeigte in dieser Zeit noch keine Veränderung. Er stieg jedoch in 60 Minuten auf 0,47 und in 120 Minuten auf 0,52 Proz. Am Morgen des nächsten Nachtages betrug der Calciumgehalt des Serums wieder 10,9 mg-Proz.

Am 15. Januar wurde die gleiche Belastung mit 100 g Dextrose ausgeführt. Der Blutkalkgehalt vor dem Versuch betrug 11,7 mg-Proz.; 15 Minuten nachher 12 mg-Proz.; 24 Stunden später ebenfalls 12 mg-Proz. Die Alkalireserve betrug während des ganzen Versuchs und in der Nachperiode annähernd 50 Proz.

Zusammenfassung.

An acht Diabetikern hat demnach eine Belastung mit Lävulose regelmäßig einen vorübergehenden Anstieg des Blutcalciumgehaltes um mindestens 1 und höchstens 2 mg-Proz. zur Folge gehabt. Diese Veränderung erwies sich als unabhängig von den übrigen durch die Lävulosezufuhr bedingten Veränderungen. Denn sie kam sowohl mit und ohne Steigerung des Blutzuckers, als auch mit und ohne Zunahme des Serumeiweißgehaltes vor. Außerdem läßt sich kein sicherer Zu-

sammenhang mit einer bestehenden Acidosis erkennen, denn in einzelnen Fällen fehlte sowohl Acetonurie als auch Verminderung der Alkalireserve, in anderen Fällen waren beide deutlich vorhanden.

Vergleichende Untersuchungen mit derselben Menge Dextrose ergaben ein völliges Fehlen jeder Beeinflussung des Blutkalkgehaltes.

An vier weiteren Fällen *bewirkte die Verabreichung von Lävulose* im Gegensatz zu den bisher beschriebenen nicht eine *Zunahme*, sondern eine *Abnahme* des Blutcalciumgehaltes. Zu den einzelnen dieser Fälle ist noch folgendes zu bemerken:

Fall 9. *Grp.*, 55jähriger Mann. Die diabetische Störung ist kompliziert durch eine allgemeine Arteriosklerose mit Hypertension. Ferner besteht eine Nephrolithiasis (ein typischer Anfall wurde in der Klinik beobachtet) und eine chronische Ischias der rechten Seite.

Ausführung der Lävulosebelastung am 12. Januar 1923. Am Tage vorher betrug die Glykosurie 1,4 Proz. Die Proben auf Aceton und Acetessigsäure waren vollkommen negativ. Alkalireserve mit 56 Proz. normal. Nach Verabreichung von 100 g Lävulose ging der Blutcalciumgehalt in 15 Minuten von 15,0 mg-Proz. auf 14,2 mg-Proz. herunter. Der Blutzucker blieb in dieser Zeit unverändert. Der Schwefelsäuregehalt des Blutserums ging von 50 auf 32 mg-Proz. herunter. Am 15. Januar betrug der Blutcalciumgehalt wieder 15 mg-Proz.

Fall 10. *Minna K.*, 47jährige Frau. Aufnahme am 15. Febraur 1923. Bei der Ausführung der Lävulosebelastung am 19. Februar bestand keine nennenswerte Acidosis. Die Probe auf Acetessigsäure war vollkommen negativ, die auf Aceton ganz schwach positiv; die Glykosurie bewegt sich um 2 Proz. Nach Verabreichung von Lävulose sank der Calciumgehalt des Serums in 15 Minuten von 13,9 auf 12,6 mg-Proz. Im Blute trat in dieser Zeit eine geringe Zunahme des Serumeiweißgehaltes ein. Das Blutkörperchenvolumen stieg von 40,5 auf 43,5 Proz. Der Blutzucker war bei der Bestimmung des Blutkalkes noch unverändert; sein Anstieg begann erst 60 Minuten nach der Lävulosezufuhr.

Fall 11. *M.* Es handelte sich um einen 38jährigen Diabetiker, der über ein Jahr in klinischer Beobachtung war und in dieser Zeit ein sehr wechselndes Verhalten zeigte. In der Zeit, in der die Belastung mit Lävulose und anschließend mit Dextrose ausgeführt wurde, bestand eine Glykosurie von etwa 2 Proz. Die Proben auf Aceton- und Acetessigsäure waren deutlich positiv. Eine wesentliche Verminderung der Alkalireserve bestand jedoch nicht; der festgesetzte Wert betrug 64 Proz. Belastung mit Lävulose am 6. November bewirkt eine Verminderung des Blutkalkes von 14,4 auf 13,4 mg-Proz. bei gleichzeitiger Zunahme des Blutzuckers von 0,29 auf 0,37 Proz. Die Verminderung des Blutcalciumgehaltes war in diesem Falle im Gegensatz zu den übrigen eine lang anhaltende. Der Kalkspiegel am Morgen des nächsten Tages zeigt mit 13,0 mg-Proz. sogar noch eine weitere Verminderung (Tabelle III).

Am 15. November war der frühere Wert von 14,4 mg-Proz. wieder erreicht. Die jetzt vorgenommene Prüfung der Dextrosewirkung ergab bei den Blutentnahmen, die ½ und 24 Stunden nachher vorgenommen wurden, den völlig unveränderten Wert von 14,4 mg-Proz.

Fall 12. *Sch.* 64jähriger Mann. Zuckerkrankheit war in diesem Falle kompliziert mit einer kavernösen, aber schrumpfenden Phthise im rechten

Oberlappen. Eine Acidosis bestand während der ganzen Behandlungszeit nicht. Die Glykosurie betrug ungefähr 1,5 Proz.

100 g Lävulose bewirken eine Senkung des Blutcalciumgehaltes in 15 Minuten von 12,5 auf 10,3 mg-Proz., d. i. die höchste Differenz, die von uns jemals beobachtet wurde. Blutzucker, Serumeiweiß und Hämoglobin blieben in dieser Zeit unverändert, ebenso der Schwefelsäuregehalt des Blutes.

Diese letzten vier Fälle haben also ausnahmslos auf Lävulose nicht mit einer Zunahme, sondern mit einer Abnahme des Blutcalciumgehaltes reagiert. Eine Erklärung für dieses unterschiedliche Verhalten kann nicht gegeben werden, und das um so weniger, als die Zusammensetzung des Blutes keine wesentlichen Abweichungen von der der zuerst besprochenen Fälle aufwies. Immerhin ist es aber doch auffallend, daß unter den vier Diabetikern, die mit einer Abnahme des Blutcalciums auf die Lävulosebelastung geantwortet haben, drei Fälle von Altersdiabetes sich befanden, während unter den acht eingangs erwähnten Fällen sich nur einer befand, der älter als 50 Jahre war. Man könnte daraus vielleicht den Schluß ziehen, daß die blutcalciumsenkende Wirkung der Lävulosezufuhr das Zeichen eines leichteren Grades der diabetischen Störung darstellt. Auch der vierte, jugendliche Fall zeigte in seinem weiteren Verlauf eine bemerkenswerte Widerstandskraft.

Die Belastung mit Dextrose wurde unter den letztgenannten vier Fällen nur einmal ausgeführt, sie blieb auch hier ohne jegliche Einwirkung auf den Blutkalkgehalt.

Im folgenden soll noch kurz über zwei weitere Fälle berichtet werden, bei denen die Verabreichung von Lävulose ohne jegliche Wirkung auf den Blutkalkgehalt blieb. Bei dem ersten Falle handelt es sich um eine diabetische Störung leichten Grades bei einem 58jährigen Manne. Auf Grund der oben angestellten Erwägungen könnte man eine Erklärung für die ausbleibende Lävulosewirkung in der Leichtigkeit des Falles erblicken. Für den anderen Fall ist dies aber nicht angängig, da es sich hier um einen jugendlichen Fall handelte, der zur Zeit des Versuchs sich im Zustande deutlicher Acidosis und schwerster Störung des Allgemeinzustandes befand. Außerdem wurde die Belastung mit Lävulose zur Kontrolle des ersten Befundes zweimal ausgeführt und ergab in beiden Versuchen, trotzdem sie annähernd einen Monat auseinander lagen, stets den gleichen Blutkalkwert. Besonders auffallend war, daß die Verabreichung von 50 g Natronbicarbonicum per os ein Sinken des bisher vollkommen stabil gebliebenen Blutkalkgehaltes um 3 mg in 14 Stunden bewirkte. *Aus diesem Umstand geht hervor, daß auch bei diesem Patienten eine Störung des intermediären Calciumstoffwechsels bestand, daß sie aber durch Lävulosebelastung nicht manifest wurde, während Natronbicarbonicum sie erkennbar werden ließ.* Außer-

Tabelle III. *M.*, 38 jähriger Diabetiker.

Datum	Zeit	Hb	Serum-albumin	Erythro-cyten	NaCl	Zucker	Ca	CO_2	Urin = NaCl		Körpergewicht	
									Proz.	ges.	morgens	abends
5. XI.		71	6,96	4,30	0,56	0,26	—	—	0,80	48,0	57,0	57,8
6. XI.		73	7,16	4,38	0,56	0,29	14,4	62	0,66	29,7	56,2	—
6. XI.	100 g Lävulose per os.											
6. XI.	15′ post	77	7,91	4,45	0,57	0,37	18,4	56	—	—	—	—
6. XI.	60 „	63	7,26	4,09	0,57	0,41	—	—	—	—	—	—
6. XI.	120 „	65	6,94	5,08	0,55	0,41	—	—	—	—	—	56,0
7. XI.		70	6,90	—	0,59	0,27	18,0	—	0,96	50,8	56,1	57,8
8. XI.		66	7,14	4,39	0,59	0,28	—	—	0,81	61,2	57,2	57,0
9. XI.		63	7,63	4,92	0,58	0,32	—	—	0,95	54,2	55,5	57,8
10. XI.		69	7,70	3,75	0,60	0,25	—	—	0,88	44,0	56,5	57,0
12. XI.		69	7,57	4,63	0,59	0,23	—	—	0,75	42,0	56,2	57,8
13. XI.		67	7,35	4,36	0,59	0,24	—	—	0,82	39,3	56,0	57,8
14. XI.		65	7,01	4,46	0,58	0,26	—	—	0,89	53,4	56,2	58,8
15. XI.		67	7,24	3,67	0,57	0,29	14,4	56	0,91	43,7	56,4	—
15. XI.	100 g Dextrose per os.											
15. XI.	30′ post	65	7,61	4,20	0,57	0,33	14,4	54	—	—	—	—
15. XI.	80 „	70	7,52	4,32	0,58	0,45	—	—	—	—	—	—
15. XI.	120 „	63	7,22	3,85	0,55	0,55	—	—	—	—	—	59,0
16. XI.		64	7,85	4,79	0,59	0,32	14,4	—	1,01	50,5	58,0	59,3
17. XI.		67	7,63	3,62	0,62	0,30	—	—	0,98	49,0	56,2	58,0

dem bedeutet diese Wirkung von Natronbicarbonicum eine Bestätigung der in der ersten Mitteilung gegebenen Versuchsergebnisse (Tabelle IV).

Tabelle IV. Schr.

Datum	Zeit	Hb	Serum-albumin	Ery-thro-cyten	NaCl	Zucker	Ca	CO_2
9. I.		75	7,46	4,65	0,59	0,29	—	—
10. I.		77	8,26	4,33	0,57	0,27	**14,2**	47
10. I.		100 g Lävulose per os.						
10. I.	15′ post	82	8,37	4,55	0,56	0,33	**14,2**	44
10. I.	60 „	84	8,34	4,22	0,54	0,44	—	—
10. I.	120 „	81	8,37	4,74	0,53	0,52	—	—
10. I.	abends	74	8,00	4,14	0,56	0,34	—	—
11. I.		76	8,04	4,64	0,54	0,33	—	—
12. I.		84	8,56	4,42	0,52	0,36	**14,2**	—
13. I.		74	7,37	4,18	0,57	0,35	—	—
29. I.		66	8,00	3,82	—	—	—	—
1. II.		65	7,52	3,75	0,57	0,30	—	—
2. II.		67	7,01	3,50	0,58	0,29	**13,9**	—
2. II.		100 g Lävulose per os.						
2. II.	15′ post	63	7,14	4,04	0,55	—	**13,9**	—
2. II.	120 „	68	7,22	3,79	0,56	—	—	—
2. II.	abends	72	7,70	3,28	0,55	—	—	—
3. II.		72	7,93	3,58	0,57	0,35	—	—
5. II.		68	8,49	3,40	0,56	0,37	**13,9**	—
6. II.		68	7,98	4,20	0,56	0,34	—	—
12. II.		67	7,72	3,71	0,59	0,33	—	—
13. II.		50 g Natronbicarbonicum per os.						
13. II.		70	8,67	4,43	0,58	0,36	**13,7**	35
13. II.		50 g Natronbicarbonicum per os.						
13. II.	1h post	64	7,49	3,78	0,58	0,30	**13,6**	—
13. II.	2 „	60	6,94	3,47	0,56	0,27	**12,6**	66
14. II.		64	7,01	3,60	0,55	0,34	**10,7**	—
15. II.		63	7,09	3,73	0,57	0,56	—	—
16. II.		64	6,90	3,56	0,55	0,31	—	—

Das im vorstehenden geschilderte Verhalten der untersuchten Zuckerkranken ließ es notwendig erscheinen, die Wirkung von Lävulose und Dextrose in derselben Weise auch am Normalen zu untersuchen. Die Versuche, die an je vier Patienten ohne wesentliche Allgemeinerkrankung ausgeführt wurden, *ergaben ausnahmslos ein negatives Resultat: In allen Fällen blieb der Blutcalciumgehalt im wesentlichen unverändert*; *Differenzen über 0,3 mg-Proz. wurden niemals beobachtet.*

Die bisherigen Mitteilungen verschiedener Autoren über Störungen des Mineralstoffwechsels beim Diabetes werden in ihrem Werte sehr dadurch herabgesetzt, daß sie uns über die Beziehungen der gefundenen Störungen zu der Kohlehydratstoffwechselstörung als solcher nichts aussagen. Sehr häufig wurde sogar ein direkter Zusammenhang ab-

gelehnt und lediglich die Acidosis dafür verantwortlich gemacht. In neuerer Zeit ist nun der Versuch gemacht worden, auf dem umgekehrten Wege diese Zusammenhänge näher zu ergründen. Eine Reihe von Autoren hat festgestellt, daß Zufuhr von mineralischen Substanzen [Phosphat, glaubersalzhaltige Mineralwässer[1])] den Blutzucker günstig beeinflussen. Unter diesen hat *Arnoldi* den Versuch gemacht, auf Grund der erzielten Blutzuckererniedrigung eine neue Theorie des Diabetes aufzustellen, wobei er der Störung des Mineralstoffwechsels eine primäre Rolle zuweist. Wieweit einer derartigen Hypothese ein heuristischer Wert zukommt, steht dahin. Eine irgendwie experimentelle Begründung besitzt sie zweifellos noch nicht, da geringe Blutzuckersenkungen ja auch mit anderen Mitteln ganz anderer Zusammensetzung (Caseosan) erreicht werden können. Auch dürften die neueren Arbeiten über das Insulin gezeigt haben, daß die Frage, ob die Mineralstoffwechselstörung beim Diabetes primärer oder sekundärer Natur ist, zurzeit ernstlich noch nicht diskutiert werden kann.

Es erscheint uns vielmehr zunächst darauf anzukommen, unsere Kenntnis über das Vorkommen von Mineralstoffwechselstörungen, die mit der Zuckerkrankheit in innerem Zusammenhange stehen, zu erweitern. Hierbei wird es sich weniger um eine Untersuchung des Bilanzstoffwechsels handeln, als um eine genaue Verfolgung der intermediären Vorgänge. Es ist schon zu Beginn dieser Mitteilung betont worden, daß eine einmalige Untersuchung hier nicht immer zum Ziele führt. Als Beweis können die von uns mitgeteilten Befunde über Störungen des intermediären Kalkstoffwechsels dienen; sie zeigen, daß beim Diabetiker trotz spontan normalen Blutkalkgehaltes eine Störung der intermediären Austauschvorgänge bestehen muß, da die Zufuhr (siehe erste Mitteilung) eines anderen Kations Wirkungen auslöst, die wir beim Gesunden nicht antreffen. Ob es sich hierbei um einen von *Spiro* sogenannten Vorgang der „Transmineralisation" handelt, müssen weitere Versuche lehren. Auf jeden Fall zeigen die in der vorliegenden zweiten Mitteilung berichteten Ergebnisse, daß auch *direkte* Beziehungen dieser *intermediären Calciumstoffwechselstörung zum Kohlehydratstoffwechsel bestehen müssen,* denn plötzliche Steigerung der Anforderung durch Zufuhr größerer Zuckermengen löst intermediäre Austauschverschiebungen aus, die beim Stoffwechselgesunden nicht vorkommen. Daß diese auslösende Eigenschaft nur der Lävulose zukommt, ist auffallend und noch nicht restlos erklärbar. Wenn man die Auffassung,

---

[1]) *Arnoldi* und *Rubitschek*, Deutsche med. Wochenschr. 1922, Nr. 8; *Paul Mayer*, ebendaselbst 1922, S. 827; *Arnoldi* und *Rubitschek*, Münch. med. Wochenschr. 1923, S. 702; *Elias* und *Weiss*, Wien. Arch. f. inn. Med. 4, 29.

daß die Lävulose praktisch nur in der Leber und nicht im Muskel verbrannt wird, als erwiesen ansehen will, so geht daraus logischerweise die Vermutung hervor, den Sitz der Störung auch in der Leber zu suchen. Wie noch zu veröffentlichende Untersuchungen zeigen, findet diese Auffassung darin eine Stütze, daß unter bestimmter Versuchsanordnung Lävulose, intravenös gegeben, auf den Calciumgehalt der Brustganglymphe bei sonst gleicher Wirkung anders einwirkt als Dextrose. Trifft diese Auffassung zu, so handelt es sich bei der *Störung des intermediären Kalkstoffwechsels um einen Vorgang, der parallel mit der Kohlehydratstoffwechselstörung, schon bevor es zur Acidosis gekommen ist, einhergeht und im inneren Zusammenhang mit ihr entsteht, die also für die Zuckerkrankheit spezifisch ist.* Diese Feststellung ist deshalb von Wichtigkeit, weil im späteren Verlauf des Diabetes sich Störungen des Wasser- und Chlorstoffwechsels einzustellen pflegen, deren Zustandekommen mehr sekundär, als Folge der Hyperglykämie oder der im späteren Verlauf eintretenden Alkaliverarmung des Organismus angesehen werden kann. Auf diese letzteren Veränderungen wird weiter unten noch näher eingegangen werden.

Nur eine Frage scheint uns durch die von uns bisher mitgeteilten Untersuchungen bis zu einem gewissen Grade beantwortet zu sein, das ist die nach den Beziehungen zwischen *Mineralstoffwechselstörung* und *Acidosis*. In allen unseren Versuchen zeigt es sich, *daß eine derartige Abhängigkeit nicht besteht.* Die in ihnen beschriebenen Mineralstoffwechselstörungen sind schon vorhanden, bevor es zu klinisch manifesten Symptomen der Acidosis gekommen ist. Ob sie durch das Fortschreiten der Acidosis eine quantitative Steigerung erfahren, steht noch dahin. Die bisherigen Beobachtungen sprechen nicht in diesem Sinne.

B. Störungen des Chlorstoffwechsels.

Die Diabetiker, an denen die im vorstehenden beschriebenen Versuche angestellt wurden, wurden zum größten Teil vom ersten Augenblick ihrer Einlieferung in die Klinik ab untersucht. Die dabei vorgenommene Untersuchung des Wasser- und Chlorstoffwechsels ergab gewisse Gesetzmäßigkeiten, über die im folgenden näher berichtet werden soll.

Über Störungen des Wasserstoffwechsels bei Zuckerkranken ist schon mehrfach berichtet worden; vor allem ist es eine jedem Kliniker bekannte Tatsache, daß komatöse Diabetiker an hochgradiger Wasserverarmung leiden. In neuerer Zeit berichtete *Veil*[1]) über einen Fall, bei dem eine Störung des Chlorstoffwechsels neben dem eigentlichen Diabetes im Vordergrund der Erscheinungen stand. Unsere Beob-

[1]) *Veil*, 33. Kongr. f. inn. Med. 1921, S. 284ff.

achtungen haben ergeben, *daß Störungen des Wasser- und Chlorstoffwechsels auch bei mittelschweren, nicht komatösen Fällen eine sehr häufige Erscheinung darstellen,* und daß die beiden Störungen in so paralleler Weise beobachtet werden können, daß sich die Annahme eines inneren Zusammenhangs aufdrängt.

Zur Erkennung der genannten Störungen erwies es sich als ausschlaggebend, *die Patienten sofort nach ihrer Einlieferung zu untersuchen.* Es wurde daher so vorgegangen, daß bei den Kranken, nachdem durch mehrstündige Bettruhe der Einfluß der vorhergegangenen Bewegung ausgeschaltet war, der Gehalt des Blutes an Hämoglobin, Serumeiweiß, Serumkochsalz und Zucker untersucht wurde. Außerdem wurde gleich die erste im Krankenhaus gelassene Urinmenge auf ihre Kochsalzkonzentration geprüft.

In 10 von 15 untersuchten Fällen fand sich bei der Einlieferung eine deutliche Herabsetzung des Blutkochsalzgehaltes (Tabelle V). Im Verlauf der Behandlung stieg der Blutkochsalzgehalt in den meisten Fällen auf normale Werte an, es kam aber auch vor, daß er dauernd unternormal blieb. In einem Falle (Fall 8 der Tabelle) wurde eine Normochlorämie durch eine hochgradige Eindickung des Blutes vorgetäuscht. Die in Wirklichkeit bestehende Verarmung des Blutes an Kochsalz wurde erst manifest, nachdem durch die Behandlung der Wassergehalt des Blutes erhöht worden war. Ein Heruntergehen von Hämoglobingehalt und Serumeiweiß von 81 und 7,57 Proz. auf 57 Proz. Hämoglobin und 6,14 Proz. Serumalbumen war begleitet von einem Abfall des Blutkochsalzspiegels von 0,58 auf 0,50 Proz.

In neun Fällen war der Wassergehalt des Blutes bei der Einlieferung deutlich herabgesetzt. Zum Teil äußerte sich das nicht so sehr in der absoluten Höhe der Blutkonzentration als darin, daß an den folgenden Tagen mit einsetzender klinischer Besserung, die mit Ausnahme von Fall 7 lediglich durch Diätregelung erzielt wurde, Hämoglobin und Serumeiweißgehalt beträchtlich nach unten gingen. Gute Beispiele hierfür bieten die Fälle 7, 8, 10 und 11 der Tabelle.

Ein Vergleich des gleichzeitig gefundenen Gehaltes des Blutes an Kochsalz einerseits und an Eiweiß und Hämoglobin andererseits zeigt, daß zwar Verarmung des Blutes an Wasser und an Kochsalz meistens gleichzeitig vorkommt, daß aber ihre Intensität ganz verschieden sein kann. So ist es zu erklären, daß einmal die Eindickung die Hyperchlorämie verdecken kann (Fall 8 der Tabelle), ein anderes Mal die Hypochlorämie gleichzeitig mit der Eindickung verschwinden kann (Fall 10); eine letzte Möglichkeit besteht darin, daß von vornherein nur eine der beiden Störungen vorhanden ist (Fälle 7 und 11).

Die gleichzeitig untersuchte Konzentration des Urins an Kochsalz ergab neunmal in dem zuerst gelassenen Urin eine Kochsalzkonzentration, die zum Teil nicht unerheblich unter der des Blutes lag. Dies Verhalten

Tabelle V.

Name	Bemerkungen	Urin = NaCl		Blut		
		Proz.	ges.	Hb	Serumalbumin	NaCl
1. *Bartelm.*	Einlieferung	—	—	80	8,49	0,56
	9. Tag	—	—	68	7,42	0,56
2. *Schroe.*	häufig vorkommend. Wert	—	—	84	8,56	0,52
3. *Mä.*	Einlieferung	0,59	—	64	7,61	0,53
	nach Behandlung	1,01	50,5	64	7,85	0,59
4. *Gr.*	Einlieferung	—	—	82	7,78	—
	4. Tag	—	—	69	6,83	—
5. *Kl.*	niedrigster Wert	—	—	—	—	0,52
	höchster Wert	—	—	—	—	0,56
6. *Bamb.*	1. Tag	0,26	—	71	7,63	0,55
drohendes Koma	2. „	0,56	12,9	76	7,76	0,62
7. *Br.*	Einlieferung	0,50	—	94	7,63	0,58
	5. Tag	1,30	16,1	78	6,72	0,59
8. *Si.*	Einlieferung	0,39	—	81	7,57	0,58
	4. Tag	0,45	9,9	66	6,49	0,50
9. *Derselbe*	Einlieferung	0,31	—	70	8,09	0,57
2. Aufnahme	2. Tag	0,55	—	64	7,85	0,59
	9. „	—	—	64	6,83	0,59
10. *Albr.*	Einlieferung	—	—	85	7,70	0,54
	11. Tag	—	—	75	6,75	0,62
11. *Gr.*	1. Tag	—	—	73	6,25	0,52
	2. „	—	—	73	5,90	0,54
	3. „	—	—	77	6,23	0,59
12. *Dö.*	Einlieferung	0,32	—	72	8,39	0,56
	2. Tag	0,50	4,5	72	8,39	—
	3. „	1,15	12,7	71	7,57	0,56
13. *Schw.*	Einlieferung	0,42	—	—	7,20	0,60
	2. Tag	0,76	11,4	87	6,12	0,60
	3. „	1,28	25,6	83	6,72	0,58
14. *Bl.*	Einlieferung	0,64	—	84	6,98	0,58
	2. Tag	1,36	—	92	7,72	0,57
	3. „	1,45	—	77	6,34	0,58
15. *Schrei.*	Einlieferung	0,37	—	—	—	—
	2. Tag	0,74	11,1	—	7,11	—
	3. „	0,74	5,2	77	7,29	0,56
	6. „	1,3	—	73	7,26	6,55

ist deshalb merkwürdig, weil Patienten ausnahmslos vor ihrer Einlieferung, wie das ja bei Diabetikern bekannt ist, wahllos große Mengen von Nahrung zu sich genommen hatten, also sicher nicht kochsalzarm ernährt waren. Daß es sich hierbei jedoch nicht um eine Konzentrationsschwäche der Niere handelte, geht daraus hervor, daß in der Regel nach wenigen Tagen die Harnkonzentration auf normale Werte über 1 Proz. hinaufging. Wo die Herabsetzung der Urinkonzentration länger wie einen Tag bestand, äußert sie sich auch in einer sehr niedrigen Gesamtkochsalzausscheidung in 24 Stunden. Erst allmählich kam dann, wie das auch von *Veil* beschrieben worden ist, die Kochsalzausfuhr in normaler Weise in Gang.

Die Bedeutung dieser Beobachtung wird dadurch nicht eingeschränkt, daß aus naheliegenden Gründen eine genaue 24-Stunden-Bilanz sofort nach der Einlieferung noch nicht aufgestellt werden konnte, da die Patienten zu ganz verschiedenen Tageszeiten in die Klinik aufgenommen wurden. Trotz dieses Mangels ließ sich mit Eindeutigkeit feststellen, daß die Herabsetzung der Chlorkonzentration nicht durch eine übernormal hohe Harnflut hervorgerufen war. Im Gegenteil waren die Urinmengen am ersten und in den folgenden Tagen fast ausnahmslos gering und stiegen erst im Verlauf der Behandlung an.

Die Beobachtungen haben demnach ergeben, daß bei *schweren und mittelschweren Diabetikern* im Zustande regelloser Diät sich fast gesetzmäßig eine *Hypochlorämie* findet, die mit der Ausscheidung *abnorm niedrig chlorkonzentrierten Urins einhergeht. Diese Störung des intermediären Chlorstoffwechsels ist häufig begleitet von einer Eindickung des Blutes. Die genannten Erscheinungen sind durchaus nicht nur ein Symptom des bestehenden oder drohenden Komas.*

In einer großen Anzahl der Fälle ging die Störung sowohl des Chlor- als auch des Wasserstoffwechsels ohne jeden weiteren Eingriff, lediglich durch Regelung der Diät, zur Norm zurück. Nur in einem Falle konnte ein spontanes Zurückgehen nicht abgewartet werden, da drohende komatöse Erscheinungen die Zufuhr von Natronbicarbonicum in die Blutbahn als notwendig erscheinen ließen.

Es liegt nahe, die geschilderte Chlorverarmung des Blutes einer Chlorverarmung des gesamten Organismus gleichzusetzen. Wieweit das berechtigt ist, steht noch nicht endgültig fest. Vielleicht ist die von dem einen von uns [*Meyer-Bisch* und *Könnecke*[1])] an anderer Stelle mitzuteilende Beobachtung von Bedeutung, daß Zuckerzufuhr zum Blute die Chlorausscheidung durch die Nieren hemmt. Sollte diese experimentelle Beobachtung eine Übertragung auf den Menschen gestatten, so könnte man auch an eine Abwanderung von Kochsalz in die Gewebe denken. Bei der ganz eindeutigen Wasserverarmung eines großen Teils dieser Patienten müßte es sich allerdings um eine „trockene Retention“ handeln (Retention sèche Mari-Vidal).

Daß Beziehungen zwischen Störungen des Chlor- und Wasserstoffwechsels und klinischem Verlauf bestehen können, zeigt nicht nur der umwälzende Einfluß der plötzlichen Diätregelung, sondern in einzelnen Fällen ließ sich sogar beobachten, daß Verschlechterungen der Zuckertoleranz immer wieder einhergingen mit Ansteigen des Refraktometerwertes und Sinken des Blutkochsalzgehaltes.

In einem Falle, in dem es nicht gelang, weder durch Diät, noch durch therapeutische Eingriffe, Hypochlorämie und Verminderung der

---

[1]) Noch unveröffentlichte Versuche.

Chlorkonzentration im Urin zu beheben, handelte es sich um einen letal ausgehenden Fall von Koma. In diesem Falle wurde 6 Tage vor dem Tode Normosal und Kochsalzlösung täglich in großen Mengen intravenös verabfolgt. Trotzdem gelang es nicht, die Konzentration des Urins auf über 0,2 Proz. zu steigern, obwohl die Serumeindickung von 11,08 (!) auf 7,16 Proz. und der Hämoglobinwert von 95 auf 70 Proz. zurückgingen. Nur der letzte vor dem Tode gelassene Urin enthielt 0,6 Proz. NaCl. Natronbicarbonicum war nur einmal am ersten Tage in einer Menge von 300 ccm gegeben worden.

Zusammenfassung.

1. In Fortsetzung von früheren Untersuchungen wird über eine weitere Störung des intermediären Calciumstoffwechsels beim Diabetes berichtet.

2. Perorale Zufuhr von 100 g Lävulose verursachte in 9 von 15 untersuchten Diabetikern eine vorübergehende Zunahme des Calciumgehaltes des Blutes; in vier Fällen, von denen drei Altersdiabetiker waren, trat dagegen eine Abnahme ein; zwei Fälle blieben unbeeinflußt.

Dextrose blieb in sämtlichen untersuchten Fällen ohne Wirkung.

3. Eine Beziehung der genannten Lävulosewirkung zum Vorhandensein einer Acidosis bestand nicht; sie wurde bei acidotischen und nicht acidotischen Diabetikern erzielt.

4. Bei Normalen trat weder nach Lävulose noch nach Dextrose eine Veränderung des Blutkalkgehaltes ein.

5. Regelmäßige Untersuchungen des Wasser- und Kochsalzhaushaltes schwerer und mittelschwerer Diabetiker direkt bei der Einlieferung ergaben, daß in vielen Fällen, *auch ohne daß Koma besteht oder im Anzuge ist*, eine Störung des Wasser- und Kochsalzstoffwechsels besteht. Die letztere äußert sich in Hypochlorämie und Herabsetzung der Chlorkonzentration des Urins. Die Störung des Wasserhaushaltes drückt sich aus in einer Eindickung des Blutes, gemessen an Hämoglobin- und Serumeiweißgehalt.

6. Die Störung des Chlor- und Wasserhaushaltes ging in den meisten Fällen ohne weiteren Eingriff durch bloße Regelung der Diät zurück. Im weiteren Verlauf war Wiederkehr von Eindickung und Hypochlorämie sehr häufig ein Anzeichen einer erneuten Verschlechterung der Zuckertoleranz.

7. In einem Falle von Koma gelang es trotz Infusion von Normosal und Kochsalz in großen Mengen nicht, die Urinkonzentration auf über 0,2 Proz. zu steigern.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 69.

Fortgesetzte Untersuchungen über die Abhängigkeit der Phagocytose von inneren Sekreten.

Von

Junsuke Masuno.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 9. September 1924.)

In einer voraufgegangenen Arbeit hatte *K. Furuya*[1]) im Verfolg der von *Asher* hierfür entwickelten Gesichtspunkte die Beziehungen zwischen der inneren Sekretion und Phagocytose untersucht. Zu diesem Zwecke hatte er die von *Hamburger* geschaffene Methode so gestaltet, daß sie für diese Art von Untersuchungen brauchbar war, wobei es darauf ankam, daß das gleiche Tier zu mehrfachen Versuchen benutzt werden konnte. Seine Untersuchungen ergaben einen außerordentlich bemerkenswerten Einfluß des Fehlens von gewissen Drüsen mit innerer Sekretion auf das phagocytäre Vermögen von Exsudatleucocyten. Diese Ergebnisse warfen ein Licht auf Probleme, welche zur Konstitutionslehre gehören, und eröffneten auch neue Ausblicke auf gewisse in der Serologie vertretenen Anschauungen.

Bei der Bedeutung, welche wir diesen Ergebnissen beimessen möchten, ist es erforderlich, über die Leistungsfähigkeit der angewandten Methodik genau orientiert zu sein. Tatsächlich hat die *Hamburger*sche Methodik der Phagocytose eine Kritik durch *Venema*[2]) erfahren, eine Kritik, gegen welche *de Haan*[3]) eine Gegenkritik gerichtet hat. Eine sehr scharfsinnige kritische Untersuchung über die theoretische Grundlage der Untersuchungen über Phagocytose verdanken wir *Wallace O. Fenn*[4]), der auch eine seinen Anforderungen entsprechende

---

[1]) *K. Furuya*, diese Zeitschr. **147**, 410, 1924.

[2]) *Venema*, Deutsch. med. Wochenschr. 1917, S. 40; 1918, S. 470 und Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten **90**, 190, 1923.

[3]) *de Haan*, Deutsch. med. Wochenschr. 1918.

[4]) *Wallace O. Fenn*, Journ. of General Physiology **8**, 439, 445, 575, 1921.

Methodik ausgearbeitet hat. Auf diese interessanten methodischen Fragen soll erst in einer späteren Arbeit eingegangen werden. Die Ergebnisse meiner Arbeiten zeigen auf einem empirischen Wege, daß die angewandte Methodik für die Entscheidung über Unterschiede von so großen Wertbeträgen eine durchaus genügende ist.

In meiner nachfolgenden Arbeit habe ich mich auch der methodologischen Erfahrungen von *Plaut*[1]), dessen Arbeit uns leider noch nicht bei Abfassung derjenigen von *Furuya* bekannt war, bedient. *Plaut* hat die gleichfalls aus *Hamburgers* Institut stammende Methode von *Radsma*[2]) für seine Zwecke modifizierend angewandt. Aus *Plauts* Untersuchung ist namentlich für uns interessant, daß der Liquor cerebrospinalis einen stark hemmenden Einfluß auf die Phagocytose hat. Derselbe beruht nicht darauf, daß die Leucocyten tiefgehend geschädigt seien, denn nach Entfernung des Liquors vermögen die Leucocyten wieder zu phagocytieren. Im Lichte unserer Betrachtung schließen wir aus dem *Plaut*schen Befunde, daß Plasma und Liquor einen bisher nicht berücksichtigten Unterschied aufweisen. Auch eine andere Erfahrung von *Plaut* ist von Interesse. Er fand, wie übrigens auch vor ihm *Radsma*, daß man die Phagocytose menschlicher Leucocyten an kleinen Blutproben studieren könne, wenn man sich hierzu des Amylums bediene. Eine Reihe von Vorversuchen, die ich anstellte, zeigte, daß bei meinen Versuchstieren, den Kaninchen, die Untersuchung der Phagocytose in einem Blutstropfen nicht gelang.

Meine nachfolgenden Untersuchungen hatten in erster Linie den Zweck, die bemerkenswerten Ergebnisse von *Furuya* erneut zu überprüfen. *Furuya* hatte gefunden, daß nach Wegnahme des Ovariums, insbesondere aber nach Wegnahme der Schilddrüse, das phagocytäre Vermögen der Exsudatleucocyten des gleichen Tieres sich stark vermindert. Da gewisse Bedenken wegen der Sicherheit der Methodik vorlagen, hatte eine erneute Überprüfung der Ergebnisse wohl seinen eigenen Wert. Sodann bestand meine Aufgabe darin, eine Tatsache, welche *Furuya* gefunden hatte und die eine Erklärung der beobachteten Erscheinung anzubahnen schien, einer erneuten Untersuchung mit abgeänderter Methodik zu unterziehen. *Furuya* hatte gefunden, daß je nach der Art des Serums, welche man den Exsudatleucocyten zusetzte, ihr phagocytäres Vermögen ein anderes war, woraus er den Schluß zog, daß weniger der Aufbau der Zellen, als das Milieu, in dem sie sich befinden, die untersuchte Leistungsfähigkeit bedingt.

Der prinzipiellste Punkt meiner Methodik bestand darin, daß ich als Leucocyten, deren Vermögen für Phagocytose geprüft werden sollte,

[1]) *Plaut*, Zeitschr. f. Neurologie und Psychiatrie **74**, 331, 1922.
[2]) *Radsma*, Arch. néerland de physiol. **2**, 301, 1918.

ausschließlich Exsudatleucocyten von normalen Tieren benutzte. Diese Leucocyten wurden aber entweder dem Serum vom normalen Tiere oder vom schilddrüsenlosen Tiere oder schilddrüsenlosen und milzlosen Tiere zugesetzt.

Ich gehe kurz auf die Methodik ein, wobei ich dasjenige auslasse, was schon näher in der früher genannten Arbeit von *Furuya* mitgeteilt wurde.

Die Phagocyten gewann ich in der folgenden Weise: Unter aseptischen Kautelen wurden dem in der Rückenlage aufgebundenen Kaninchen 100 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung in die Bauchhöhle eingeführt, und zwar vormittags um 9 Uhr. Nach 5 Stunden wurde das reichlich Phagocyten enthaltende Exsudat wiederum unter aseptischen Kautelen entnommen. Nach der Aufnahme des Exsudats wurde die Stichwunde mit Chloroformkollodium geschlossen.

Nach dem Vorgange von *de Haan*, *Radsma* und *Plaut* habe ich anstatt der von *Hamburger* und *Furuya* gebrauchten Kohle Reismehl als phagocytierenden Körper angewandt. Das käufliche Reismehl wurde in kleinen Mengen zuerst im Porzellanmörser und dann in einem Achatmörser so lange verrieben und zerkleinert, bis sämtliches Reismehl der Mörserwand glatt anhaftet und beim Schütteln sich nicht mehr von dieser ablöst. Die Größe der Teilchen habe ich oft mit dem Mikroskop kontrolliert, da für die Genauigkeit der Versuchsergebnisse der Feinheitsgrad des Reismehls von hervorragender Bedeutung ist, ebenso die Gleichmäßigkeit der Größe. Am geeignetsten sind die Partikelchen etwa in der Größe roter Blutkörperchen.

Zur weiteren Verarbeitung, im wesentlichen nach *Hamburger*, wurden zehn Tropfen Exsudat aus der Bauchhöhle in gewöhnlichen Gläsern und Zentrifugierröhrchen mit 10 ccm 0,7proz. Kochsalzlösung aufgenommen, in der 1,1proz. citronensaures Natron aufgelöst war, und dann in einer elektrischen Zentrifuge 2½ Minuten zentrifugiert. Nach langsamem Anlassen der Zentrifuge wird die Geschwindigkeit allmählich gesteigert, so daß während der letzten 20 Sekunden die maximale Umdrehungsgeschwindigkeit von 3000 Touren erreicht wird. Nach Abhebung des größten Teiles der oberen Flüssigkeit wurde 0,9proz. Kochsalzlösung hinzugefügt, dann vorsichtig umgeschüttelt, wieder 2½ Minuten zentrifugiert, die Flüssigkeit abgehoben und aufs neue 0,9proz. Kochsalzlösung zugegeben. Nach abermaligem Zentrifugieren wurde die Flüssigkeit wieder fast ganz entfernt.

Von der so erhaltenen Phagocytosesuspension wurde dann mittels einer Kapillarpipette je 0,1 ccm entfernt und in die zu untersuchenden, je 1 ccm Serum enthaltenden Zylindergläschen gebracht, welche etwa 2 cm Durchmesser und 20 ccm Inhalt haben.

Für jeden Versuch habe ich aus dem betreffenden Versuchstier das Serum frisch gewonnen.

Um den Einfluß des zu untersuchenden Serums auf die Phagocyten zu prüfen, wurden die Gemische bei Zimmertemperatur eine halbe Stunde lang sich selbst überlassen, hierzu wurden 0,25 ccm einer Suspension von Reismehl hinzugesetzt, das folgendermaßen hergestellt wurde:

50 mg Reismehl wurden zweimal in 0,9proz. Kochsalzlösung gewaschen, die gewaschene Menge in 10 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung verteilt und durch häufiges Schütteln eine gleichmäßige Suspension hergestellt. Nach diesem Zusatz wurde das Gemisch eine Viertelstunde sich selbst überlassen und alle 5 Minuten in einem Gestell vorsichtig bewegt, um der Homogenität der Suspension so gut wie möglich sicher zu sein.

Um eine dauernd gleichmäßige Mischung und Berührung von Reismehl und Phagocyten aufrecht zu erhalten, wurde die Reismehl- und Phagocytensuspension dann im Wasserbade einer Temperatur von 37^0 ausgesetzt und alle 10 Minuten aus dem Wasserbade genommen und vorsichtig hin und her bewegt. Im ganzen verweilten die Gläschen 40 Minuten im Wasserbade, dann wurden sie alle zu gleicher Zeit in den Eisschrank gebracht, dort stehengelassen und nach einer oder mehreren Stunden wurden die mikroskopischen Präparate angefertigt.

Nach dem Schütteln habe ich die Reismehlphagocytensuspension in eine Kapillarpipette aufgenommen, einen Tropfen davon in eine *Leitz*sche Zählkammer gebracht und dann die Untersuchung vorgenommen. Die Zählung erfolgte auf einer verschiebbaren Zellvorrichtung, die angewandte Optik war *Leitz* Objektiv 8, Okular 3.

Ich habe es mir angelegen sein lassen, immer eine sehr große Anzahl von Leucocyten insgesamt durchzuzählen. Oft habe ich 700, 800, ja sogar 1000 Leucocyten durchgesehen, um hieraus die Anzahl der Leucocyten, welche Amylum aufgenommen haben und die Prozentzahl der aufnehmenden Leucocyten nach *Hamburgers* Vorgang zu ermitteln. Bei so großen Zahlen und unter den Bedingungen meiner Versuche dürften deren Ergebnisse den Sachverhalt richtig wiedergeben und fallen nach den Regeln der Wahrscheinlichkeitsrechnung gewisse Bedenken weg.

Die Ergebnisse meiner Versuche gehen klar aus den Tabellen I bis III hervor. Ich bemerke zu deren Verständnis, daß zuerst von jedem einzelnen Tiere das Normalserum mehrfach entnommen wurde und dieses den Exsudatleucocyten eines normalen, im übrigen nicht weiter behandelten Tieres zugesetzt wurde, sodann erfolgte die betreffende Operation und nach der Operation wurde mehrfach das Serum mit normalen Exsudatleucocyten zusammengebracht.

Tabelle I.

Phagocytäres Vermögen im Serum des schilddrüsenlosen Kaninchens.

	Datum 1924	Anzahl der Leucocyten	Anzahl der Leucocyten, welche Amylum aufgenommen haben	Prozentzahl der Leucocyten, welche Amylum aufgenommen haben	
Versuch vor der Operation	13. VI.	806	251	30,9	**29,8**
	16. VI.	945	275	29,1	
	18. VI.	639	184	28,8	
	21. VI.	1212	338	27,9	
	3. VII.	495	148	30,0	
Versuch nach der Operation (7. VII. 1924 Operation)	9. VII.	1262	30	2,4	**5,6**
	11. VII.	863	53	6,7	
	14. VII.	1073	58	5,4	
	16. VII.	875	58	6,6	
	18. VII.	998	70	7,1	

Tabelle II.

Phagocytäres Vermögen im Serum des milzlosen Kaninchens.

	Datum 1924	Anzahl der Leucocyten	Anzahl der Leucocyten, welche Amylum aufgenommen haben	Prozentzahl der Leucocyten, welche Amylum aufgenommen haben	
Versuch vor der Operation	16. VI.	859	223	27,1	**28,2**
	18. VI.	616	159	25,8	
	21. VI.	679	208	30,6	
	25. VI.	1032	306	29,6	
	3. VII.	634	176	27,9	
Versuch nach der Operation (7. VII. 1924 Operation)	9. VII.	1429	106	7,4	**11,3**
	11. VII.	536	76	13,5	
	14. VII.	1059	125	11,8	
	16. VII.	964	112	11,6	
	18. VII.	1124	138	12,3	

Tabelle III.

Phagocytäres Vermögen im Serum des schilddrüsen- und milzlosen Kaninchens.

	Datum 1924	Anzahl der Leucocyten	Anzahl der Leucocyten, welche Amylum aufgenommen haben	Prozentzahl der Leucocyten, welche Amylum aufgenommen haben	
Versuch vor der Operation	16. VI.	801	256	31,9	**28,7**
	18. VI.	573	115	27,0	
	21. VI.	1132	297	26,1	
	25. VI.	674	208	30,0	
	3. VII.	548	156	28,5	
Versuch nach der Operation (7. VII. 1924 Operation)	9. VII.	1210	22	1,8	**5,1**
	11. VII.	884	54	6,3	
	14. VII.	900	48	5,3	
	16. VII.	965	55	5,7	
	18. VII.	1233	79	6,4	

Bei der großen Klarheit und Eindeutigkeit der Ergebnisse bedarf es nur weniger Worte der Erläuterung. Ich hebe in erster Linie hervor, daß bei sämtlichen drei Kaninchen das normale Serum normale Exsudatleucocyten fast in der gleichen Weise phagocytierte, indem nämlich die Prozentzahlen der Leucocyten, welche Reis aufgenommen haben, 29,3, 28,2, 28,7 Proz. betrugen. Da die gewonnenen Zahlen, wie schon gesagt, aus sehr großen Zählungen resultieren, ist die Konstanz eine sehr bemerkenswerte und könnte nicht erreicht werden, wenn der Methodik Fehlerquellen anhafteten, welche unter den Bedingungen meiner Versuche so auffallende Versuchsergebnisse zeitigen könnten. Auch stimmen meine Versuche im allgemeinen mit denjenigen von *Furuya* überein; wenn seine Zahlen etwas höher waren, so kam das daher, daß er sich der Kohlepartikelchen bediente.

Nach Exstirpation der Schilddrüse des voruntersuchten Kaninchens bewirkt der Zusatz von dessen Serum zu Exsudatleucocyten vom normalen Tiere, daß die Prozentzahl der Leucocyten, welche phagocytiert hatten, nur noch 5,6 Proz. beträgt. Hieraus geht mit aller Schärfe hervor, daß es Eigenschaften des Serums sind, welche den Zellen die Größe des phagocytären Vermögens aufzwingen, nicht die Zellart sich verändert, sondern die Blutflüssigkeit andere Eigenschaften besitzt. Es hat sich gewissermaßen die Konstitution des Blutes verändert. Das, was sich nicht aus den Versuchsergebnissen ergibt, ist, ob dem Plasma des schilddrüsenlosen Tieres etwas fehlt oder ob dieses Plasma ein reversibel schädigendes Moment enthält.

Die gleichen Betrachtungen gelten für die Erfahrungen am milzlosen Kaninchen. Auch hierbei zeigt sich, daß der Zusatz des Serums, nach der Operation, zu normalen Leucocyten das phagocytäre Vermögen derselben herabsetzt. Die Verminderung ist nicht so groß wie durch das Serum des schilddrüsenlosen Tieres, aber immerhin sehr ausgesprochen. Es zeigt sich, daß mit Rücksicht auf das phagocytäre Vermögen die Exstirpation der Schilddrüse und die Exstirpation der Milz gleichsinnig wirkt, nur quantitativ verschieden stark.

Nach den mitgeteilten Erfahrungen war das Resultat nach Exstirpation der Schilddrüse und der Milz vorauszusehen. Wie aus Tabelle III ersichtlich, sinkt die Prozentzahl der Leucocyten, welche phagocytieren, nach der Doppeloperation auf 5,1 Proz., also den gleichen Wert wie nach der bloßen Schilddrüsenoperation. Eine Addition der Wirkungen war wohl schwerlich zu erwarten, zum Teil wohl deshalb, weil wir uns an der unteren Grenze des phagocytären Vermögens bewegen, zum Teil wohl auch deshalb, weil die Schilddrüsenexstirpation an und für sich schon eine maximale Veränderung der Konstitution des Blutes hervorruft.

Zusammengefaßt, sind die Ergebnisse meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Das phagocytäre Vermögen normaler Exsudatleucocyten in Berührung mit normalem Serum ist ein ziemlich konstantes.

2. Dieses konstante Resultat könnte nicht erreicht werden, wenn die angewandte Versuchsmethodik von *Hamburger*, *Radsma* die Tatbestände nicht richtig wiederzugeben vermöchte.

3. Nach Exstirpation der Schilddrüsen, sowie nach Exstirpation der Milz ist die Konstitution des Blutplasmas verändert, so daß normale Leucocyten in Berührung mit demselben ein tief herabgesetztes Vermögen aufweisen, wobei die Schilddrüsenentfernung quantitativ stärker wirkt.

4. Die Doppeloperation der Schilddrüse und der Milz wirkt nicht additiv, weil das Fehlen der Schilddrüse das Maximum der Wirkung herbeiführt.

5. Die Ergebnisse von *Furuya* erfahren durch die voraufgehende Untersuchung eine Erweiterung und vollständige Bestätigung.

Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle[1].

Von

Otto Warburg, Karl Posener und Erwin Negelein.

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem, und aus der chirurgischen Universitätsklinik der Charité, Berlin.)

(Eingegangen am 10. September 1924.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Greift man das Carcinomproblem von der Seite der Stoffwechselphysiologie an, so ist die erste Frage: wodurch unterscheidet sich der Stoffwechsel wachsenden Gewebes von dem Stoffwechsel ruhenden Gewebes? Die Aussichten, eine Antwort auf diese Frage zu finden, sind groß. Ob ein Gewebe seine Substanz konstant hält oder ob es sie in kurzer Zeit vervielfacht, muß in der Geschwindigkeit der Vorgänge begründet sein, die die treibenden Kräfte für den Aufbau der Gewebesubstanz liefern. Es wird unsere Aufgabe sein, nach solchen Vorgängen zu suchen und ihre Geschwindigkeit in ruhenden und wachsenden Geweben zu vergleichen.

Ist diese Aufgabe gelöst, so werden wir weiter fragen, ob die *Ordnung* des Wachstums in dem Stoffwechsel zum Ausdruck kommt. Unterscheidet sich der Stoffwechsel der ungeordnet wachsenden Tumoren von dem Stoffwechsel der geordnet wachsenden Embryonen? Diese Frage zielt auf den Kern des Tumorproblems. Die Aussichten, sie zu lösen, wird man im allgemeinen für gering halten, mit Recht, wenn es allein die formbildenden Kräfte sind, die den Tumoren fehlen. Denn von allen Problemen der Physiologie ist das Formproblem das unzugänglichste.

Doch erscheint es von vornherein zweifelhaft, ob zwischen dem Wachstum der Jugend und dem Wachstum der Tumoren wirklich nur derartig feine und unfaßbare, nicht vielmehr grobe physikalisch-chemische Unterschiede bestehen. Wer in der Carcinomfrage weiter kommen will, muß sich auf den zweiten Standpunkt stellen. Wir

---

[1]) Zur Ausführung dieser Arbeit hat uns die Rockefeller-Foundation große Mittel zur Verfügung gestellt. Herrn Geheimrat *Hildebrand*, Direktor der chirurgischen Universitätsklinik, sprechen wir auch hier für die Förderung unserer Arbeit vielen Dank aus.

haben es getan und werden im folgenden zeigen, daß er der richtige Standpunkt ist.

Die Methode, mit der wir den Stoffwechsel von Tumoren und anderen Geweben untersucht haben, ist vor kurzem in dieser Zeitschrift [1]) beschrieben worden und wird im folgenden als bekannt vorausgesetzt. Wir erinnern an die Bedeutung der Quotienten Q_{O_2}, $Q_{CO_2}^{O_2}$ und $Q_{CO_2}^{N_2}$, durch die wir die Ergebnisse unserer Messungen ausdrücken. Es ist

$$Q_{O_2} = \frac{\text{cmm verbrauchten Sauerstoffs}}{\text{mg Gewebe} \times \text{Stunden}} \text{ (Atmung)}$$

$$Q_{CO_2}^{O_2} = \frac{\text{cmm Extrakohlensäure, gebildet in Sauerstoff}}{\text{mg Gewebe} \times \text{Stunden}} \text{ (Glykolyse unter aeroben Bedingungen)}$$

$$Q_{CO_2}^{N_2} = \frac{\text{cmm Extrakohlensäure, gebildet in Stickstoff}}{\text{mg Gewebe} \times \text{Stunden}} \text{ (Glykolyse unter anaeroben Bedingungen)}$$

Die alte Methode [2]) zur Messung der Glykolyse ist korrekt für anaerobe Bedingungen, dagegen ungenau in Sauerstoff, wenn das Gewebe atmet. Einige wenige Versuche dieser Arbeit — und nur solche unter anaeroben Bedingungen — sind nach der alten Anordnung ausgeführt. Wo dies geschehen, findet sich in den Protokollen die Anmerkung „alte Anordnung".

Einteilung der Arbeit.

I. Flexner-Joblingsches Rattencarcinom.
II. Menschliche Tumoren.
III. Der Embryo.
IV. Stationärer Zustand von Bindegewebe und Epithel.
V. Hypothese über die Entstehung der Tumoren.
VI. Keimepithel, Thymus, Lymphdrüsen.
VII. Graue Gehirnsubstanz und Netzhaut.
VIII. Ammoniakbildung und Glykolyse.
IX. Protokolle.

I. Flexner-Joblingsches Rattencarcinom.

Das *Flexner-Jobling*sche Rattencarcinom [3]) ist im Jahre 1906 im Abdomen einer Ratte, gebunden an die linke Samenblase, gefunden und seitdem durch Transplantation weitergezüchtet worden. Professor *Rhoda Erdmann* brachte ein Tumortier vom Rockefellerinstitut nach Berlin, und ihr verdanken wir unseren Ausgangstumor.

---

[1]) *O. Warburg*, Verbesserte Methode zur Messung der Atmung und Glykolyse, diese Zeitschr. **152**, 51, 1924.

[2]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **142**, 317, 1923.

[3]) *S. Flexner* und *Jobling*, Studies upon a transplantable rat tumor. Monographs of the Rockefeller-Institute for Medical Research, New York 1910.

Wir impfen kleine Stückchen des Tumors unter die Rückenhaut oder in die Bauchhöhle von Ratten, die mit Weizen und Gerste gefüttert werden. Die Hauttumoren sind innen nekrotisch, ihre intakte Randschicht besteht vorwiegend aus Epithel und enthält wenig Bindegewebe. Die Bauchtumoren sind weniger nekrotisch, jedoch reichlicher mit Bindegewebe durchsetzt. In dünnen Schnitten unterscheidet man mit unbewaffnetem Auge leicht die zellreichen blaustichigen Teile von den gelblichen nekrotischen und weißen bindegewebigen Teilen. Wir haben uns bemüht, für unsere Versuche nur Schnitte zu verwenden, die vorwiegend aus Epithelzellen bestanden.

1. Die Glykolyse unter anaeroben Bedingungen.

Bringt man einen Carcinomschnitt in traubenzuckerhaltige Ringerlösung, so wird der Zucker nach der Gleichung

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,C_3H_6O_3 \text{ (Glykolyse)}$$

zu Milchsäure gespalten und es erscheint eine der Milchsäure äquivalente Menge an Extrakohlensäure (1 Mol Extrakohlensäure = 1 Mol Milchsäure, 1 cmm Extrakohlensäure = 0,004 mg Milchsäure).

Unter anaeroben Bedingungen erscheint mehr Extrakohlensäure als unter aeroben Bedingungen. Die Geschwindigkeit der Glykolyse hängt außerdem ab von der Temperatur, der Konzentration der Wasserstoffionen, des Bicarbonats und des Zuckers. Wir wählen für vergleichende Versuche eine Temperatur von 37,5°, einen Zuckergehalt von 0,2 Proz, eine Bicarbonatkonzentration von $2{,}5 \,.\, 10^{-2}$ und eine Wasserstoffionenkonzentration von $10^{-7{,}66}$ Molen/Liter, und finden[1]) für $Q_{CO_2}^{N_2}$ im Mittel 31. Es setzt also — unter anaeroben Bedingungen — 1 mg Tumor pro Stunde im Mittel 31 cmm Extrakkohlensäure in Freiheit, die äquivalent sind 0,124 mg Milchsäure [Mittelwert von *Minami*[2]) 0,129 mg Milchsäure].

Die Bedeutung dieser Zahl machen wir uns klar, indem wir an Bekanntes anknüpfen. Nach den neuesten Arbeiten über die Glykolyse im Blute spaltet 1 Liter Blut pro Stunde 150 mg Zucker zu Milchsäure. Blut bildet pro Stunde 0,1 Proz. seines Trockengewichts an Milchsäure gegenüber 12,4 Proz., die der Tumor bildet. Die glykolytische Wirkung des Carcinomgewebes ist 124mal größer als die glykolytische Wirkung von Blut.

Ein ruhender Froschmuskel bildet nach *Fletcher* und *Hopkins*[3]) und *Meyerhof*[4]) unter anaeroben Bedingungen pro Stunde 0,06 Proz.

---

[1]) Vgl. Tabelle I im Abschnitt 10 dieses Kapitels und die Protokolle Nr. 7.

[2]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **142**, 317, 1923; *Seigo Minami*, ebendaselbst **142**, 334, 1923.

[3]) *Fletcher* und *Hopkins*, Journ. of Physiol. **35**, 247, 1907.

[4]) *Meyerhof*, Arch. f. d. ges. Physiol. **188**, 114, 1921.

seines Gewichts, ein maximal arbeitender Froschmuskel 1,5 Proz. seines Gewichtes an Milchsäure. Carcinomgewebe bildet also 200mal so viel Milchsäure als ein ruhender Froschmuskel und achtmal so viel Milchsäure als ein arbeitender Froschmuskel an der Grenze seiner normalen Leistungsfähigkeit.

2. Lebensdauer in Ringerlösung.

Es ist wenig wahrscheinlich, daß der gewaltige Stoffumsatz der Carcinomzelle, den wir in der Ringerlösung finden, erst dann einsetzt, wenn wir das Gewebe aus seinen normalen Lebensbedingungen herausnehmen. Wir finden, daß die glykolytische Wirkung, wenn die Schnitte in zuckerhaltiger Ringerlösung gehalten werden, tagelang in unverändertem Maße anhält. Zuckerhaltige körperwarme Ringerlösung, mit kohlensäurehaltigem Sauerstoff durchlüftet, ist ein Medium, in dem die Carcinomzelle nicht nur Zucker spaltet, sondern lebt. Denn nehmen wir die Schnitte nach dreitägigem Aufenthalt aus der Ringerlösung heraus, so ist nicht nur die glykolytische Wirkung, sondern auch die Impfausbeute bei der Transplantation ebenso groß wie für frisch dem Körper entnommenes Material.

3. Abtöten durch Gefrieren, Nekrose.

Findet sich, daß eine Carcinomzelle, die lebt, glykolytisch wirkt, so läßt sich umgekehrt zeigen, daß die Carcinomzelle beim Abtöten ihre glykolytische Wirksamkeit einbüßt. Bringt man Carcinomgewebe in flüssige Luft und taut es wieder auf, so ist die glykolytische Wirksamkeit verschwunden und mit ihr, soweit unsere Erfahrungen reichen, das Leben. Denn gefrorenes und wieder aufgetautes Gewebe war nicht mehr mit Erfolg transplantabel.

Aus dem Gesagten folgt, daß nekrotisches Tumorgewebe glykolytisch unwirksam sein wird. In der Tat bildet nekrotisches Tumorgewebe keine nachweisbaren Mengen Milchsäure.

4. Die Wasserstoffionenkonzentration.

Wenn die glykolytische Wirksamkeit der Carcinomzelle eine integrierende Eigenschaft der Carcinomzelle ist, so ist es von Interesse, den Einfluß von Milieuänderungen zu untersuchen, wie sie im lebenden Organismus vorkommen. Wir beschränken uns auf die Wasserstoffionen-, die Bicarbonat- und die Glucosekonzentration und messen die Beeinflussung der Glykolyse, indem wir — immer unter anaeroben Bedingungen — die Konzentrationen in der Ringerlösung variieren.

Um verschiedene Wasserstoffionenkonzentrationen herzustellen, sättigen wir die Ringerlösung bei konstanter Bicarbonatkonzentration mit Gasmischungen verschiedenen Kohlensäuregehaltes und berechnen

nach *Hasselbalch*[1]) die p_H-Werte. Wir finden bei einer Glucosekonzentration von 0,2 Proz., einer Bicarbonatkonzentration von $6{,}2 \cdot 10^{-3}$ Molen/Liter und bei 37,5° (Protokoll 1):

Vol.-Proz. CO_2	1	2,4	4,3	15
p_H	7,83	7,45	7,20	6,66
$Q^{N_2}_{CO_2}$	**16,8**	**13,5**	**12,0**	**7,3**

Das Ergebnis ist in Abb. 1 graphisch dargestellt. Die Glykolyse nimmt mit wachsendem p_H zu. Denkt man sich die Kurve nach unten bis zum Schnittpunkt mit der Abszissenachse verlängert, so zeigt sich, daß in der Nähe von $p_H = 6$ die Glykolyse verschwindet. Es sei erwähnt, daß die Glykolyse im Blute nach *Rona* und *Wilenko*[2]) bei $p_H = 7{,}52$ ein Maximum zeigt, und unter $p_H = 6{,}3$ nicht mehr nachweisbar ist. Bei kleinen Werten von p_H verhält sich also Carcinomgewebe wie Blut, bei größeren Werten von p_H anders.

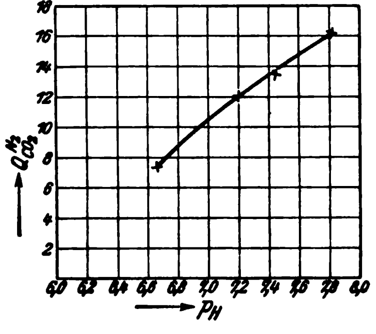


Abb. 1.

5. Die Bicarbonatkonzentration.

Läßt man die Konzentration des Bicarbonats wachsen, während man den Kohlensäuredruck konstant hält, so wächst p_H und damit die Glykolyse. Läßt man gleichzeitig den Kohlensäuredruck wachsen, so daß p_H konstant bleibt, so bleibt die Glykolyse nicht, wie man erwarten könnte, konstant, sondern wächst gleichwohl. Es gibt also eine besondere Wirkung des Bicarbonats auf die Glykolyse.

Um sie zu ermitteln, variieren wir Bicarbonatkonzentration und Kohlensäuredruck in gleichem Maße und erhalten bei fast konstantem p_H (Protokoll 2):

Vol.-Proz. CO_2	Bicarbonatkonzentration Mole/Liter	p_H, berechnet	$Q^{N_2}_{CO_2}$
1,0	$3{,}1 \cdot 10^{-3}$	7,56	**18,8**
2,4	$7{,}75 \cdot 10^{-3}$	7,54	**19,0**
4,3	$15{,}5 \cdot 10^{-3}$	7,55	**25,2**
15	$46{,}5 \cdot 10^{-3}$	7,43	**26,1**

Um den Einfluß des p_H vollständig zu eliminieren, rechnen wir die Q_{CO_2}-Werte mit Hilfe der Abb. 1 auf $p_H = 7{,}55$ um. Es ergibt

[1]) *Hasselbalch*, diese Zeitschr. 78, 126, 1917.
[2]) *Rona* und *Wilenko*, ebendaselbst 62, 1, 1914.

sich das Bild der Abb. 2. Die Glykolyse wächst — bei konstantem p_H — mit der Konzentration des Bicarbonats. Verlängert man die Kurve nach unten bis zum Schnittpunkt mit der Abszissenachse, so sieht man, daß die Glykolyse bei der Bicarbonatkonzentration Null sehr klein ist. Dies erklärt, daß *Russel* und *Gye*[1]), als sie den Kohlehydratstoffwechsel der Tumorzelle untersuchten, die Glykolyse übersahen. Denn, wie sie ausdrücklich erwähnen, benutzten sie Ringerlösung ohne Bicarbonat.

Aus dem Zusammenwirken von Wasserstoffionen und Bicarbonat ergibt sich, wie eine nähere Überlegung zeigt, eine eigentümliche Regu-

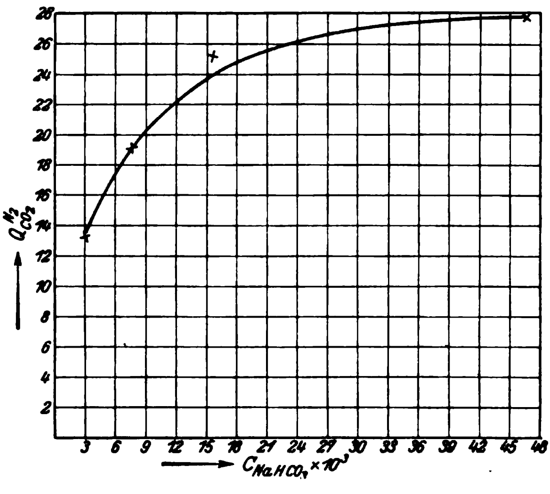


Abb. 2.

lierung des Stoffwechsels. Beim Strömen des Blutes durch die Kapillaren wird die Reaktion saurer, p_H sinkt von 7,51 auf 7,35. Bliebe die Bicarbonatkonzentration konstant, so würde der Stoffwechsel ***sinken***, und zwar nach Abb. 1 um 8 Proz. Nun wissen wir aber, daß gleichzeitig die Bicarbonatkonzentration von etwa $9 \cdot 10^{-3}$ bis $13 \cdot 10^{-3}$ Molen/Liter steigt. Bliebe die Wasserstoffionenkonzentration konstant, so würde der Stoffwechsel ***steigen***, und zwar nach Abb. 2 um etwa 10 Proz. Es kompensieren sich also beide Einflüsse weitgehend, so daß der Stoffwechsel in venösem und arteriellem Plasma der gleiche bleibt.

Wir bemerken noch, daß Bicarbonat durch andere Salze vertreten werden kann, z. B. durch Phosphat. Doch ist dieser Umstand nicht von Bedeutung mit Hinblick auf den Stoffwechsel im Plasma.

---

[1]) *Russel* und *Gye*, British Journ. of exper. Pathol. 1, Nr. 4, 1920.

6. Die Glucosekonzentration.

Wir haben die Glucosekonzentration bei konstantem p_H (7,66) und konstanter Bicarbonatkonzentration (2,5 . 10^{-2}) von 0,02 bis 0,2 Proz. variiert und folgende Glykolysewerte erhalten (Protokoll 3):

Glucosekonzentration . .	0,02	0,067	0,2 Proz.
$Q^{N_2}_{CO_2}$	15	28,2	38,8

Der Versuch ist in Abb. 3 graphisch dargestellt. Man erkennt, daß die Glykolyse mit der Konzentration der Glucose wächst, um so langsamer, je größer die Glucosekonzentration. Verlängert man die Kurve nach rechts, so wird sie bei einer Glucosekonzentration, die zwischen 0,2 und 0,3 Proz. liegt, der Abszissenachse parallel, der Höchstwert der Glykolyse ist dann erreicht.

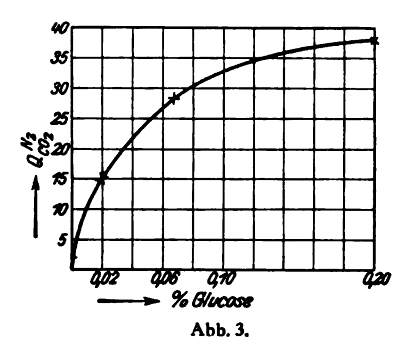


Abb. 3.

7. Einfluß der Temperatur.

Sättigt man Ringerlösung bei steigenden Temperaturen mit einem Kohlensäuregemisch von gleicher prozentischer Zusammensetzung, so sinkt mit steigender Temperatur, wegen der Abnahme der Löslichkeit, die Konzentration der Kohlensäure. Die Ringerlösung sollte also mit steigender Temperatur alkalischer werden. Dem wirkt entgegen[1]), daß die Kohlensäure mit steigender Temperatur eine stärkere Säure wird, und im ganzen kommt in dem Bereich von 18 bis 38° eine Zunahme des p_H um etwa 0,1 zustande, die wir vernachlässigen.

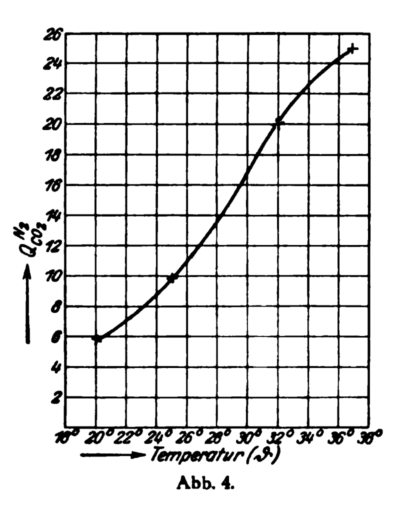


Abb. 4.

Wir haben die Glykolyse für ein und denselben Carcinomschnitt hintereinander bei 20, 25, 32, 37 und schließlich wieder bei 25° gemessen (Glucosekonzentration von 0,2 Proz., Bicarbonatkonzentration von 2,5 . 10^{-2}, mittleres p_H 7,7) und folgende Werte erhalten (Protokoll 4):

Temperatur	20	25	32	37	25°
$Q^{N_2}_{CO_2}$	5,7	9,8	20,0	25,0	9,5

[1]) Vgl. hierzu die schöne Arbeit von *Hasselbalch*, diese Zeitschr. 78, 126, 1917.

Der Versuch ist in Abb. 4 graphisch dargestellt. Aus der Kurve entnehmen wir, daß die prozentische Zunahme der Glykolyse pro Grad beträgt:

bei	$\frac{\frac{dQ}{d\vartheta}}{Q}$
20°	10,5 Proz.
25	11,0 „
30	10,8 „
37	2,8 „

8. Andere Kohlehydrate. α- und β-Glucose.

In den bisher beschriebenen Versuchen war der Zucker der Ringerlösung eine im Gleichgewicht befindliche Mischung von α- und β-Glucose. Wir haben uns gefragt, wie spezifisch die Zelle auf ihr natürliches Substrat eingestellt ist, und verschiedene Kohlehydrate auf ihre glykolytische Spaltbarkeit geprüft. Es zeigte sich, daß nur Hexosen angegriffen werden und von ihnen außer Glucose nur Mannose, Fructose und Galaktose. Dabei waren die Geschwindigkeiten

	$Q^{N_2}_{CO_2}$
für d-Glucose	23,9
„ d-Mannose	21,6
„ d-Fructose	3,3
„ d-Galaktose	1,3

Was die beiden Formen der Glucose, ihre α- und β-Form, anbetrifft, so haben wir einen wesentlichen Unterschied der glykolytischen Spaltbarkeit nicht gefunden. Da sich beide Formen, in Wasser gelöst, schnell ineinander umwandeln, so wurde die Glykolyse sofort nach dem Auflösen der Zucker gemessen, indem wir Gefäße von der Form der Abb. 5 benutzten. In *R* befand sich der Schnitt in zuckerfreier Ringerlösung, in *A* eine gewogene Menge des trockenen Zuckers. War Temperatur- und Druckausgleich eingetreten, so wurde der Zucker durch Neigen der Gefäße aus *A* in den Hauptraum herübergeholt, und wenige Minuten später begann die Druckmessung. Wir fanden in den ersten 10 Minuten (vgl. Protokoll 5) $Q^{N_2}_{CO_2}$ für α-Glucose gleich 15,2, für β-Glucose gleich 13,2, und schließen daraus, daß beide Formen der Glucose ungefähr, wenn auch nicht genau gleich schnell angegriffen werden.

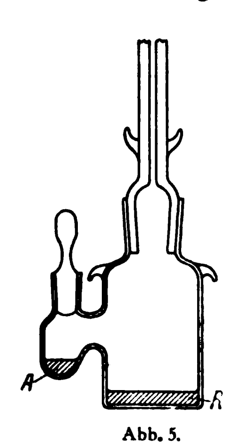


Abb. 5.

9. Methylglyoxal.

Nach einer Theorie von *Neuberg*[1]) ist die Primärreaktion der Glykolyse die Spaltung von Zucker zu Methylglyoxal, einer Substanz,

[1]) *C. Neuberg*, Über den Kohlehydratumsatz der Zelle, Oppenheimers Handb. d. Biochem. 1913.

die sich in lebendem Gewebe[1]) nach den Feststellungen von *Neuberg* und *Dakin* leicht zu Milchsäure umlagert. Wir haben den Traubenzucker der Ringerlösung durch eine ungefähr äquimolekulare Menge von Methylglyoxal ersetzt und gefunden, daß Carcinomgewebe — unter anaeroben Bedingungen — aus Methylglyoxal in der Zeiteinheit etwa ebensoviel Milchsäure bildet wie aus Zucker.

Doch handelt es sich hier nicht um eine besondere Eigenschaft glykolytisch wirksamer Gewebe. Lebergewebe, das glykolytisch zehnmal unwirksamer ist als Carcinomgewebe, verwandelt Methylglyoxal mit der gleichen Geschwindigkeit zu Milchsäure wie Carcinomgewebe (vgl. Protokoll 6).

10. Glykolyse unter aeroben Bedingungen.

Nachdem wir uns über die Glykolyse unter anaeroben als den einfacheren Bedingungen orientiert haben, gehen wir zu den komplizierteren aeroben Bedingungen über, unter denen zu der Spaltung des Zuckers die Oxydation des Zuckers tritt, die Atmung.

Seit den berühmten Untersuchungen *Pasteurs* über das Leben ohne Sauerstoff wissen wir, daß Spaltungs- und Oxydationsvorgänge in der Zelle nicht voneinander unabhängig sind. Bringt man eine Zelle, die anaerob Zucker spaltet, in Sauerstoff, so bewirkt die nun einsetzende Atmung, daß der Spaltungsstoffwechsel kleiner wird bzw. verschwindet.

Meyerhof[2]) hat für den Fall des Muskels gezeigt, in welcher Weise die Wirkung der Atmung auf den Spaltungsstoffwechsel zustande kommt. Nach *Meyerhof* existiert im Muskel ein Kreislauf von der Form

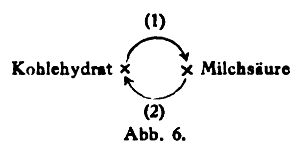


Abb. 6.

Vorgang (1), die Spaltung von Kohlehydrat zu Milchsäure, verläuft freiwillig, Vorgang (2), der Aufbau von Milchsäure zu Kohlehydrat, verlangt Zufuhr von Energie und verläuft nur bei Gegenwart von Sauerstoff, indem die Atmung die notwendige Energie liefert. Vorgang (1), die Spaltung, ist die anaerobe Phase, Vorgang (2), der Aufbau, die aerobe Phase des Kreislaufs.

Offenbar hängt die Geschwindigkeit des Vorgangs 2, da die Atmung die treibende Kraft liefert, von der Größe der Atmung ab. Eine beliebig

[1]) *C. Neuberg*, Über den Kohlehydratumsatz der Zelle, Oppenheimers Handb. d. Biochem. 1913.

[2]) *O. Meyerhof*, Arch. f. d. ges. Physiol. **185**, 11, 1920; **188**, 114, 1921.

kleine Atmung kann nicht beliebig große Milchsäuremengen zum Verschwinden bringen, sondern es besteht eine Beziehung, die durch den Energiebedarf des Vorgangs 2 und die Energie, die die Atmung liefert, bestimmt ist.

Die Beziehung wird gemessen durch das Verhältnis

$$\frac{\text{zum Verschwinden gebrachte Milchsäure}}{\text{Atmung}},$$

das wir als Meyerhofquotienten[1]) bezeichnen wollen. *Meyerhof* findet für dieses Verhältnis die Zahlen 1 bis höchstens 2, was besagt, daß 1 Mol. veratmeten Sauerstoffs 1 bis höchstens 2 Mol. Milchsäure zum Verschwinden bringt.

Wir haben den Meyerhofquotienten für Carcinomgewebe, Milchsäurebakterien, embryonales Gewebe und eine Reihe anderer glykolysierender Gewebe bestimmt und im allgemeinen dieselben Mittelwerte wie *Meyerhof* erhalten. In der Regel bringt 1 Mol. veratmeten Sauerstoffs, gerade so wie im Muskel, 1 bis 2 Mol. Milchsäure zum Verschwinden.

Dieses Resultat ist aus zweierlei Gründen wichtig. Erstens beweist es, daß die Wirkung der Atmung auf den Spaltungsstoffwechsel in der Carcinomzelle normal ist. Zweitens macht es wahrscheinlich, daß die Erklärung, die *Meyerhof* für die Wirkung der Atmung im Falle des Muskels gefunden hat, allgemeiner gilt. Mag man diese letztere Folgerung zugeben oder nicht, jedenfalls besteht die erwähnte zahlenmäßige Bindung zwischen der *Größe* der Atmung und der *Wirkung* der Atmung.

Von dieser Tatsache wollen wir ausgehen, wenn wir uns fragen, was geschieht, wenn wir Zellen, die anaerob Zucker spalten, in aerobe Bedingungen überführen[2]). Ist die Geschwindigkeit der Spaltung groß und die Atmung klein, so wird beim Übergang zu aeroben Bedingungen die Atmung wenig ausrichten und auch in Sauerstoff der größte Teil des Spaltungsstoffwechsels bestehen bleiben. Reicht dagegen die Atmung aus oder ist sie sogar groß im Vergleich zu der Ge-

---

[1]) *Meyerhof* rechnet den Sauerstoffverbrauch auf „oxydierte Milchsäure" um und dividiert die zum Verschwinden gebrachte Milchsäure durch die „oxydierte Milchsäure". Da *ein* Molekül veratmeten Sauerstoffs einem drittel Molekül oxydierter Milchsäure äquivalent ist, so ist der Quotient $\frac{\text{zum Verschwinden gebrachte Milchsäure}}{\text{oxydierte Milchsäure}}$ 3 mal so groß, als unser Quotient.

[2]) Sprechen wir von einem Spaltungs*stoffwechsel*, so haben wir nur die Endprodukte, die tatsächlich erscheinen, im Auge, und sehen ab von Spaltungs*phasen*, die etwa in einem inneren Kreislauf auftreten und wieder verschwinden.

schwindigkeit der Spaltung, so wird in Sauerstoff der Spaltungsstoffwechsel verschwinden. Ein Beispiel für den ersten Fall ist die Kulturhefe, deren Atmung im Vergleich zur Geschwindigkeit der Spaltung klein ist und die deshalb anaerob und aerob ungefähr gleichviel Zucker spaltet. Ein Beispiel für den zweiten Fall ist der Muskel, dessen Atmung ausreicht, um die Milchsäure zum Verschwinden zu bringen oder der *Pasteur*sche Mucor mucedo, der beim Übergang von anaeroben zu aeroben Bedingungen aufhört zu gären.

Tabelle I.

*Flexner-Jobling*sches Rattencarcinom.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 \cdot 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

Nr.	I Q_{O_2} (Atmung)	II $Q_{CO_2}^{O_2}$ (Glykolyse in Sauerstoff)	III $Q_{CO_2}^{N_2}$ (Glykolyse in Stickstoff)	IV Hemmung der Glykolyse durch Sauerstoff $\left(\frac{III-II}{III}\right)$ Proz.	V *Meyerhof*-Quotient $\left(\frac{III-II}{I}\right)$	VI Aerobe Glykolyse / Atmung $\left(\frac{II}{I}\right)$
1	— 4,5	+ 21	—	—	—	4,7
2	— 7,8	+ 28	—	—	—	3,6
3	— 11,5	+ 30	—	—	—	2,6
4	— 5,1	+ 18	—	—	—	3,6
5	— 7,5	+ 30,5	—	—	—	4,1
6	— 2,4	+ 17,7	—	—	—	7,4
7	— 4,1	+ 25,6	+ 30,8	18	1,3	5,1
8	— 3,5	+ 19	+ 26,8	29	2,2	5,4
9	— 7,5	+ 22,5	+ 34,6	35	1,6	3,0
10	— 12,8	+ 27	+ 34,5	22	0,6	2,1
11	— 11,8	+ 26	+ 34	24	0,7	2,2
12	— 10,4	+ 22,3	+ 25,2	12	0,3	2,1
13	— 2,5	+ 18,6	+ 28,3	34	3,9	7,6
14	— 9,0	+ 24	+ 30,8	21	0,73	2,7
15	— 11,5	+ 25,5	+ 33,8	25	0,72	2,2
16	— 6,7	+ 27,7	+ 37,0	25	1,4	4,2
17	— 5,5	+ 18	+ 25,6	30	1,4	3,3
18	— 8,9	+ 23,7	+ 27,3	13	0,4	2,7
19	— 4,1	+ 25,7	+ 33,8	24	2,0	6,4
Mittel:	— *7,2*	+ *25*	+ *31*	*23*	*1,3*	*3,9*

Es ist, wie wir glauben, die wichtigste Tatsache, die wir in bezug auf den Stoffwechsel des Carcinomgewebes gefunden haben, daß Carcinomgewebe sich nicht verhält wie der Muskel oder der *Pasteur*sche Mucor, sondern wie die Hefe. Bringen wir den Tumor aus Stickstoff, in dem er Zucker spaltet, in Sauerstoff, so sinkt zwar die Glykolyse, verschwindet aber nicht, sondern bleibt zum größten Teil bestehen. In Stickstoff bildet der Tumor pro Stunde im Mittel 31 cmm, in Sauerstoff 25 cmm Extrakohlensäure (vgl. Tabelle I). Obwohl in dem Tumor

jedes veratmete Sauerstoffmolekül ebenso wirksam ist wie im Muskel — der Meyerhofquotient ist in beiden Fällen gleich —, so bringt die Atmung die Glykolyse doch nicht zum Verschwinden. Die Atmung des Carcinomgewebes ist zu klein im Vergleich zu seiner glykolytischen Wirksamkeit.

11. Das Verhältnis $\frac{\textit{aerobe Glykolyse}}{\textit{Atmung}}$.

Der Stoffwechsel des Carcinomgewebes in Sauerstoff ist also kein reiner Oxydationsstoffwechsel, sondern eine Mischung von Oxydations- und Spaltungsstoffwechsel. Um den Grad der Mischung zahlenmäßig auszudrücken, dividieren wir die aerobe Glykolyse durch die Atmung und erhalten so die Zahl der Milchsäuremoleküle, die pro Molekül veratmeten Sauerstoffs erscheinen. Nach Tabelle I ist dieses Verhältnis, das von nun an im Mittelpunkt unserer Betrachtungen stehen wird, für das Rattencarcinom durchschnittlich 3,9, was besagt, daß der Tumor, während er 1 Mol. Sauerstoff in der Atmung aufnimmt, 3,9 Mol. Milchsäure abgibt.

Die Bedeutung dieser Zahl wird noch klarer, wenn wir Glykolyse und Atmung auf den Zucker, der in beiden Vorgängen verbraucht wird, umrechnen. 1 Mol. Milchsäure zeigt die Spaltung eines halben Moleküls Zucker an, 1 Mol. veratmeten Sauerstoffs die Oxydation eines sechstel Moleküls Zucker. Multiplizieren wir das Verhältnis $\frac{\text{aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$ mit 3, so erhalten wir das Verhältnis $\frac{\text{Zuckerspaltung}}{\text{Zuckeroxydation}}$. Dieses Verhältnis wird für unseren Tumor 12, was besagt, daß von 13 angegriffenen Zuckermolekülen eines oxydiert, der Rest gespalten wird. Der Stoffwechsel des Carcinomgewebes in Sauerstoff ist also *vorwiegend* ein Spaltungsstoffwechsel.

12. Die Wirkung der Blausäure auf die Glykolyse.

Wie alle Spaltungsvorgänge, ist die Glykolyse gegenüber Blausäure wenig empfindlich. n/1000 Blausäure wirkt unter anaeroben Bedingungen nicht auf die Glykolyse, während sie die Atmung der Carcinomzelle fast vollständig hemmt.

Ist nun die Wirkung des Sauerstoffs auf die Glykolyse eine Wirkung der Sauerstoff*atmung*, so muß die aerobe Glykolyse in Blausäure ebenso groß sein wie die anaerobe Glykolyse. Dies ist tatsächlich der Fall. Sättigen wir Carcinomgewebe mit Sauerstoff und fügen Blausäure hinzu, so steigt die Glykolyse von dem aeroben auf den anaeroben Wert (Protokoll 8).

II. Menschliche Tumoren.

So auffallend das, was wir über den Stoffwechsel des Rattencarcinoms erfahren haben, auch ist, so wenig läßt sich zunächst über

die Bedeutung der gefundenen Tatsachen aussagen. Denn wir wissen weder, wie sich andere Tumoren, noch wie sich normale Gewebe verhalten. Die Pionierarbeiten über Glykolyse, die Arbeiten von *Embden*[1]) und *Levene*[2]) beweisen zwar, daß Lebergewebe und weiße Blutzellen glykolytisch wirken, lassen aber die Größe des glykolytischen Umsatzes im wesentlichen noch unbestimmt und unterscheiden nicht zwischen anaeroben und aeroben Bedingungen.

Wir haben, um einen Überblick über die Erscheinungen zu gewinnen, eine große Anzahl verschiedener Gewebearten in derselben Weise wie das *Flexner*sche Rattencarcinom untersucht, also die Atmung, die Glykolyse in Sauerstoff und die Glykolyse in Stickstoff gemessen, indem $p_H = 7{,}66$, die Bicarbonatkonzentration $2{,}5 \cdot 10^{-2}$ und die Glucosekonzentration 0,2 Proz. war.

1. *Epithelreiche menschliche Carcinome.*

Will man den Stoffwechsel menschlicher Carcinome mit dem Stoffwechsel des Rattencarcinoms vergleichen, so muß man bedenken, daß das Rattencarcinom vorwiegend aus Epithel besteht, während die menschlichen Carcinome in wechselnder Weise aus Bindegewebe und Epithel zusammengesetzt sind. Man darf also nicht beliebige menschliche Carcinome — etwa Scirrhuscarcinome mit einigen Prozenten Epithel — mit dem Rattencarcinom vergleichen, sondern muß möglichst epithelreiche Carcinome auswählen.

Wir haben das getan und im Laufe dieses Sommers in der Charité 12 geeignete Fälle zur Untersuchung erhalten, die 30 bis 80 Proz. Epithel enthielten. Die Resultate sind in Tabelle II (vgl. Protokoll 9) zusammengestellt.

Aus der Tabelle erkennen wir, daß die menschlichen Carcinome unter anaeroben Bedingungen (Spalte III) stark glykolysieren, indem sie im Mittel pro Stunde 21 cmm Extrakohlensäure bilden oder 8,4 Proz. ihres Gewichts an Milchsäure.

Gehen wir zu aeroben Bedingungen über (Spalte II), so sinkt die Glykolyse, verschwindet aber nicht, sondern bleibt zum größeren Teil bestehen. Das Verhältnis aerobe Glykolyse/Atmung ist im Mittel 3,1, der Stoffwechsel unter aeroben Bedingungen also vorwiegend ein Spaltungsstoffwechsel.

Für die Fälle 4 bis 12 der Tabelle II war es möglich, den Gehalt an Epithel in zweifarbig gefärbten Schnitten einigermaßen abzuschätzen. Nimmt man an, daß der Stoffwechsel des Bindegewebes gegen den Stoffwechsel der Krebszellen nicht in Betracht kommt —

[1]) *G. Embden* und *Kraus*, diese Zeitschr. **45**, 1, 1912.

[2]) *P. A. Levene* und *Meyer*, Journ. Biol. Chem. **11**, 361, 1912; *P. A. Levene*, ebendaselbst **15**, 65, 1913.

Tabelle II. Epithelreiche Carcinome des Menschen.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2,5 . 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7,66$.

Nr.	Sitz des Carcinoms	Histologischer Befund	Prozentgehalt an Krebszellen etwa Proz.	I	II	III	IV	V	VI	VII
				Q_{O_2} (Atmung)	$Q^{O_2}_{CO_2}$ (Glykolyse in Sauerstoff)	$Q^{N_2}_{CO_2}$ (Glykolyse in Stickstoff)	Hemmung der Glykolyse durch Sauerstoff Proz.	*Meyerhofs* Quotient $\left(\frac{III-II}{I}\right)$	Aerobe Glykolyse / Atmung $\left(\frac{II}{I}\right)$	$Q^{N_2}_{CO_2}$ korr. für 100 Proz. Krebszellen
1	Kehlkopf, Recidiv	Plattenzellen	?	— 3,3	+ 10,8	+ 21,2	49	3,1	3,2	?
2	Mastdarm	Drüsenzellen	?	— 5,2	+ 15,6	+ 27,2	43	2,2	3,0	?
3	Dickdarm (Sigm.)	"	?	— 7,5	+ 17,4	+ 26,7	35	1,2	2,4	?
4	Kehlkopf	Plattenzellen	80	— 7,5	+ 14,6	+ 19,3	24	0,63	2,0	+ 25
5	Haut der Ohrmuschel	"	67	— 3,5	+ 15,8	+ 20,9	24	1,5	4,5	+ 31
6	Penis	"	50	— 7,9	+ 18,8	+ 28,6	34	1,2	2,4	+ 57
7	Lupuscarcinom der Nase	"	50	— 3,6	+ 14,6	+ 19,4	25	1,3	4,1	+ 39
8	Penis	"	35	— 5,9	+ 11,9	+ 14,8	20	0,5	2,0	+ 43
9	Penis	"	60	— 2,0	+ 11,5	+ 18,3	37	3,4	5,9	+ 30
10	Haut	Basalzellen	50	— 7,0	+ 11,9	+ 16,8	29	0,7	1,7	+ 34
11	Schleimhaut des Unterkiefers	Plattenzellen	50	— 4,8	+ 10,1	+ 18,2	45	1,7	2,1	+ 36
12	Lupuscarcinom der Gesichtshaut	"	30	— 3,5	+ 12,9	+ 22,4	42	2,7	3,7	+ 75
13	Kopfhaut	Basal-Plattenzellen	80	(— 4,7)	(+ 5,1)	(+ 12,6)	(60)	(1,6)	(1,1)	(+ 16)
			Mittel:	— 5,1	14	21	34	1,7	3,1	+ 41

was nach unseren Messungen an reinem Bindegewebe erlaubt ist[1]) —, so kann man die beobachteten Werte auf Epithel umrechnen und erhält die Wirkung des Epithels der Carcinome. Wir haben die anaerobe Glykolyse in dieser Weise umgerechnet und die gefundenen Zahlen in Spalte VII der Tabelle II eingetragen. Es ergibt sich als Mittelwert pro Stunde 41 cmm Extrakohlensäure, was besagt, daß das Epithel der menschlichen Carcinome pro Stunde im Mittel 16,4 Proz. seines Gewichts an Milchsäure bildet (gegenüber 12,4 Proz. für Rattencarcinom). An dem Verhältnis aerobe Glykolyse/Atmung ändert sich natürlich durch die Umrechnung nichts, da es unabhängig ist von der absoluten Größe der Atmung und Glykolyse.

Fassen wir zusammen, so lehrt die Untersuchung der menschlichen Carcinome, daß die große anaerobe Glykolyse, die im Vergleich zu ihr zu kleine Atmung, keine besonderen Eigenschaften des Rattencarcinoms sind, sondern allgemeine Eigenschaften des Epithels der Carcinome.

Einer besonderen Besprechung bedarf noch der Fall 13 unserer Tabelle, dessen Stoffwechselwerte wir bei der Berechnung der Mittelwerte herausgelassen und deshalb in der Tabelle eingeklammert haben. Der Fall — eine scharf abgegrenzte Geschwulst der Kopfhaut — wurde von dem Chirurgen als gutartiger Tumor operiert, erwies sich aber bei der histologischen Untersuchung als Carcinom. Bemerkenswerterweise finden wir in diesem Falle den Stoffwechseltypus gutartiger Tumoren.

2. Sarkome.

Wir haben *einen* brauchbaren Sarkomfall zur Untersuchung erhalten, ein Rundzellensarkom der Leistengegend mit etwa 80 Proz. Rundzellen, und fanden

Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	$Q_{CO_2}^{N_2}$	*Meyerhof*-Quotient	$\frac{\text{Aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$
— 4,9	+ 15,6	+ 27,9	2,5	3,2

also im wesentlichen dieselben Verhältnisse wie für zellreiche Carcinome.

3. Gutartige Tumoren.

Von gutartigen menschlichen Tumoren haben wir Blasenpapillome und Nasenpolypen untersucht, erstere als Beispiele epithelialer, letztere als Beispiele bindegewebiger Tumoren. Hierbei schnitten wir die Blasenpapillome so, daß unser Versuchsmaterial fast ausschließlich aus Epithelzellen bestand.

Die Resultate sind in Tabelle III (vgl. Protokoll 10) zusammengestellt. Wir finden die anaerobe Glykolyse für das Epithel der Pa-

[1]) Vgl. Kapitel IV.

pillome ebenso groß wie für das Epithel der Carcinome, die anaerobe Glykolyse für das Bindegewebe der Polypen kleiner, etwa halb so groß wie für das Epithel der Papillome und Carcinome. In bezug auf die anaerobe Glykolyse — zum mindesten in bezug auf ihre Größenordnung — besteht also kein Unterschied zwischen gutartigen und bösartigen Tumoren.

Tabelle III.

Gutartige Tumoren des Menschen.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 \cdot 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

Nr.	Art des Gewebes	I	II	III	IV	V	VI
		Q_{O_2} (Atmung)	$Q_{CO_2}^{O_2}$ (Glykolyse in Sauerstoff)	$Q_{CO_2}^{N_2}$ (Glykolyse in Stickstoff)	Hemmung d. Glykolyse durch Sauerstoff Proz.	*Meyerhof*s Quotient $\left(\frac{III-II}{I}\right)$	Aerobe Glykolyse / Atmung $\left(\frac{II}{I}\right)$
1	Blasenpapillom nahezu 100 Proz. Epithelzellen	— 9,2	+ 9,2	+ 14	34	0,5	1,0
2		—12,3	+ 17,8	+ 36	50	1,5	1,45
3		—18,6	+ 19,5	+ 27	27	0,4	1,04
	Mittel:	—13	+ 16	+ 26	37	0,8	*1,2*
4	Nasenpolyp . .	— 5,9	+ 5,6	+ 14,6	62	1,5	0,95
5	„ . .	— 4,2	+ 5,3	+ 14,9	64	2,3	1,25
6	„ . .	— 5,4	+ 3,0	+ 13,8	78	2,0	0,54
	Mittel:	— 5,2	+ 4,6	+ 14	68	1,9	*0,92*

Gehen wir dagegen zu aeroben Bedingungen über, so tritt ein Unterschied auf, der unser größtes Interesse verdient. Das Verhältnis aerobe Glykolyse/Atmung ist für gutartige Tumoren nicht 3 bis 4, wie für bösartige Tumoren, sondern drei- bis viermal kleiner, rund 1. Zwar glykolysieren auch die gutartigen Tumoren, wenn wir sie mit Sauerstoff sättigen, und zwar reicht auch die Atmung der gutartigen Tumoren nicht aus, um die Glykolyse zum Verschwinden zu bringen, aber das Verhältnis Spaltungsstoffwechsel/Oxydationsstoffwechsel ist für die gutartigen Tumoren weit zugunsten des Oxydationsstoffwechsels verschoben. Pro Molekül veratmeten Sauerstoffs bilden die bösartigen Tumoren drei- bis viermal mehr Milchsäure als die gutartigen Tumoren.

So bestätigt die Stoffwechseluntersuchung die Erfahrungen der Pathologie, daß zwischen gutartigen und bösartigen Tumoren keine prinzipiellen, sondern nur graduelle Unterschiede bestehen.

III. Der Embryo.

Wenn sich die Ordnung des Wachstums wirklich, wie es nach dem Vergleich zwischen gutartigen und bösartigen Tumoren scheint, in dem Verhältnis des Spaltungs- zum Oxydationsstoffwechsel geltend macht, so müssen die Resultate noch klarer werden, wenn wir von den

gutartigen Tumoren zu vollkommen geordnetem Wachstum, zu embryonalem Gewebe, übergehen.

Als Versuchsmaterial haben wir auf Rat von Herrn *Heinrich Poll* Hühnerembryonen in den ersten 3 bis 5 Tagen der Bebrütung gewählt. In dieser Zeit ist die Wachstumsgeschwindigkeit beträchtlich und dürfte der Größenordnung nach übereinstimmen mit der Wachstumsgeschwindigkeit junger *Flexner*scher Rattencarcinome.

1. Glykolyse unter anaeroben Bedingungen.

Hühnerembryonen, mit ihren Fruchthüllen aus dem Ei herauspräpariert, sind ein ausgezeichnetes und leicht beschaffbares Material für Untersuchungen des embryonalen Stoffwechsels. Wir haben die äußeren Verhältnisse der Tumorversuche eingehalten — Temperatur, Wasserstoffionen-, Bicarbonat- und Glucosekonzentration — und den Stoffwechsel unter anaeroben wie aeroben Bedingungen gemessen.

Es ergab sich als erstes wichtiges Resultat, daß der Embryo unter anaeroben Bedingungen reichlich Milchsäure bildet. In Tabelle IV sind die Ergebnisse von sechs Versuchen zusammengestellt. $Q_{CO_2}^{N_2}$ ist im Mittel 23, also etwa ebenso groß wie für Tumoren. Wir haben uns durch chemische Kontrollen[1]) überzeugt, daß auch für den Embryo Äquivalenz zwischen Zuckerspaltung und Milchsäurebildung einerseits, Bildung von Extrakohlensäure andererseits besteht, erhalten also die mittlere Milchsäurebildung in Milligrammen, indem wir 23 mit 0,004 multiplizieren. Die Rechnung ergibt 0,09 mg pro Milligramm Embryo und Stunde. Der Embryo bildet anaerob pro Stunde 9 Proz. seines Gewichtes an Milchsäure.

Tabelle IV. Hühnerembryo.

37,5°. Ringerlösung. $c_{NaHCO_3} = 2{,}5 \cdot 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2 in N_2. $p_H = 7{,}66$.

Bebrütungszeit in Tagen	Gewicht des Embryos mg	$Q_{CO_2}^{N_2}$ (Glykolyse in Stickstoff)
3	0,74	+ 26,5
3	1,2	+ 18,5
3½	2,0	+ 20,6
4	5,3	+ 27,8
4	2,5	+ 20,7
5	9,0	+ 18,2
	Mittel:	+ 23

[1]) Für die chemischen Bestimmungen verwendeten wir 30 mg Embryonen und 15 ccm Ringerlösung, und bewegten die Embryonen 2 Stunden in der Ringerlösung. Nach dieser Zeit nahmen wir sie aus der Ringerlösung heraus, entfernten Spuren von Eiweiß aus der Ringerlösung nach *Schenk* und titrierten im Schenkfiltrat den Zucker nach *Bertrand*, oder ätherten das Schenkfiltrat aus und destillierten den Ätherrückstand nach *v. Fürth-Charnas*.

2. *Die Glykolyse unter aeroben Bedingungen.*

Es ergab sich als zweites wichtiges Resultat, daß der Embryo unter aeroben Bedingungen fast keine Milchsäure bildet. Sauerstoff bringt die Milchsäure praktisch vollständig zum Verschwinden. Stellen wir die Embryowerte den Rattencarcinomwerten gegenüber, so erhalten wir folgendes Bild:

	Atmung	Aerobe Glykolyse	Anaerobe Glykolyse	*Meyerhof*-Quotient	$\frac{\text{Aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$
Rattencarcinom .	7,2	25	31	1,3	3,9
Hühnerembryo[1]) .	10	1,1	20,6	2	0,1

Die anaerobe Glykolyse für Embryo ist 21, die aerobe Glykolyse 1, die Atmung 10, das Verhältnis $\frac{\text{aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$ wird 0,1, rund 40mal kleiner als für Carcinom. Der Stoffwechsel des Embryos unter aeroben Bedingungen ist fast rein aerob.

Zusammengefaßt, zeigen die Versuche, daß die große glykolytische Wirksamkeit keine besondere Eigenschaft der Tumoren ist, sondern offenbar eine allgemeine Eigenschaft wachsenden Gewebes, daß aber ein fundamentaler Unterschied besteht zwischen Embryo und Tumoren in dem Verhältnis der Atmung zur Glykolyse. Die Atmung des Embryos reicht aus, um die Glykolyse zum Verschwinden zu bringen, die Atmung der Tumoren ist zu klein. Dies ist der Unterschied zwischen geordnetem und ungeordnetem Wachstum, den zu finden wir in der Einleitung als unsere wichtigste Aufgabe bezeichnet haben.

3. *Umwandlung des Stoffwechseltypus.*

Überlegt man, auf welche Weise wohl der Stoffwechseltypus der Tumoren aus dem Stoffwechseltypus des Embryos entstehen könnte, so sind es offenbar Störungen in dem Verhältnis der Atmung zur Glykolyse, die hier wirksam sein werden, Beschleunigungen der Glykolyse ohne entsprechende Beschleunigung der Atmung oder Hemmungen der Atmung ohne entsprechende Hemmung der Glykolyse. Wir haben mit Hinblick auf die Entstehung der Tumoren versucht, derartige Störungen zu erzeugen, und teilen hier zwei Anordnungen mit, die die gesuchten Wirkungen hervorbringen.

Fügen wir der Ringerlösung, in der sich der Embryo befindet, eine kleine Menge Blausäure hinzu, so viel, daß die Atmung gehemmt wird, aber so wenig, daß noch eine gut meßbare Atmung übrig bleibt, so finden wir (Protokoll 11):

[1]) Protokoll Nr. 11.

Atmung	Aerobe Glykolyse	Anaerobe Glykolyse	*Meyerhof*-Quotient	$\frac{\text{Aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$
3,6	12	20,6	2,2	3,4

Ein Vergleich mit den oben mitgeteilten Normalwerten lehrt, daß die Atmung auf ein Drittel gesunken, die anaerobe Glykolyse unverändert geblieben ist. Der Meyerhofquotient ist normal geblieben. Wirkt nun auch jedes veratmete Sauerstoffmolekül wie in der blausäurefreien Ringerlösung, so werden doch zu wenig Sauerstoffmoleküle veratmet, um die Milchsäure zum Verschwinden zu bringen. Es erscheint aerobe Milchsäure, und das Verhältnis $\frac{\text{aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$ ist 3,4, wie für Carcinome.

Wichtiger ist unsere zweite Anordnung. Wir bringen den Embryo einige Stunden lang bei Körperwärme unter anaerobe Bedingungen, indem wir die Ringerlösung mit Stickstoff sättigen. Enthält die Ringerlösung Zucker und sorgt man durch Bewegung des Schnittes für ausreichenden Stoffaustausch, so zeigt sich, daß Sauerstoffmangel zwar die Atmung schädigt, nicht aber die Glykolyse. Bringt man also den Embryo in Sauerstoff zurück, so hat man das gewünschte Mißverhältnis zwischen Atmung und Glykolyse, die Atmung im Vergleich zur Glykolyse ist zu klein geworden und in Sauerstoff erscheint Milchsäure. Beispielsweise finden wir nach zweistündigem Sauerstoffmangel (Protokoll 11):

Atmung	Aerobe Glykolyse	Anaerobe Glykolyse	*Meyerhof*-Quotient	$\frac{\text{Aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$
7,2	6,8	20,6	1,9	0,94

Aus dem aeroben Stoffwechseltypus des Embryos ist so der gemischte Stoffwechseltypus der Tumoren entstanden, in diesem Falle der Typus gutartiger Tumoren mit dem Wert 1 für das Verhältnis $\frac{\text{aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$.

Schließlich wollen wir als drittes Beispiel, wenn auch nicht streng hierher gehörend, noch einen Versuch von *Meyerhof*[1]) erwähnen. *Meyerhof* zerschnitt den Muskel und fand, daß sowohl Atmung als auch Glykolyse anstiegen, jedoch nicht in gleichem Maße, sondern die Glykolyse stärker als die Atmung. Die Folge war, daß beim Übergang von anaeroben zu aeroben Bedingungen die Glykolyse nicht mehr wie im intakten Muskel verschwand, die Atmung war, wie *Meyerhof* sich ausdrückt, nicht mehr imstande, „der Milchsäureflut Herr zu

[1]) *O. Meyerhof*, Arch. f. d. ges. Physiol. 188, 114, 1921.

werden". Auch hier könnte man, wenn man die Vorgänge im zerschnittenen Muskel als Stoffwechsel bezeichnen will, von einer Umwandlung des Stoffwechseltypus sprechen.

IV. Stationärer Zustand von Bindegewebe und Epithel.

Wenn die glykolytische Wirksamkeit eine Eigenschaft wachsender Zellen ist, so muß jedes Gewebe, ob embryonal oder erwachsen, glykolytisch wirken. Denn die Ruhe erwachsenen Gewebes ist nur eine scheinbare, in Wirklichkeit ist sie ein stationärer Zustand, in dem Wachstum und Absterben sich das Gleichgewicht halten. In der Tat findet man bei Anwendung hinreichend feiner Methoden in der Regel Glykolyse.

Von besonderem Interesse waren für uns diejenigen Gewebearten, aus denen Carcinome und Sarkome hervorgehen, Bindegewebe und Epithel. Wir haben als Beispiel für Bindegewebe Muskelfascie untersucht, als Beispiel für Epithel: Darmschleimhaut, Leber, Niere, Pankreas, Submaxillaris und Schilddrüse. Die Ergebnisse sind in Tabelle V (Protokolle 12 und 13) zusammengestellt.

Der Stoffwechsel erwachsenen Bindegewebes ist minimal. Was das Epithel anbetrifft, so fanden wir immer eine anaerobe Glykolyse, zum Zeichen, daß die Eigenschaften des embryonalen Gewebes im Laufe des Lebens nie ganz verschwinden. Doch ist die anaerobe Glykolyse für ruhendes Epithel zehnmal kleiner als für das Epithel der Tumoren. Der Sprung in der glykolytischen Wirksamkeit beim Übergang von der Ruhe zum Wachstum ist also gewaltig und noch größer, als der Sprung der Atmung bei der Befruchtung des Seeigeleies[1]).

Die aerobe Glykolyse ist im allgemeinen kaum meßbar. Bei einer relativ großen Atmung wird so für die epithelialen Drüsen und die Schleimhaut der Wert $\frac{\text{aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$ nahezu Null, der Stoffwechsel ist unter aeroben Bedingungen fast rein aerob.

Nach den Tumoren und dem embryonalen Gewebe haben wir so einen dritten Zustand kennengelernt, den stationären Zustand. Betrachten wir die Zustände in der Reihenfolge des natürlichen Geschehens, so steht am Anfang der embryonale Zustand mit einer großen anaeroben Glykolyse und einer auf sie abgestimmten Atmung. Es folgt im Laufe der Entwicklung der stationäre Zustand mit einer kleinen anaeroben Glykolyse. Aus ihm entwickelt sich der dritte Zu-

---

[1]) Nach *O. Warburg*, Arch. f. d. ges. Physiol. **160**, 324, 1915 und Hoppe-Seyler **57**, 1, 1908, springt die Atmung bei der Befruchtung des Seeigeleies auf das 6- bis 7 fache.

Tabelle V.

Stationärer Zustand von Bindegewebe und Epithel.
37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2,5 . 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2.
$p_H = 7,66$.

Gewebe	I	II	III	IV
	Q_{O_2} (Atmung)	$Q^{O_2}_{CO_2}$ (Glykolyse in Sauerstoff)	$Q^{N_2}_{CO_2}$ (Glykolyse in Stickstoff)	Aerobe Glykolyse / Atmung $\left(\frac{II}{I}\right)$
Muskelfascie (Ratte) . .	sehr klein	sehr klein	sehr klein	—
Darmschleimhaut (Ratte)	— 12,4	+ 1,6	+ 3,5	0,1
Leber „	— 11,6	+ 0,6	+ 3,3	0,05
Niere „	— 21	0	+ 3,2	0
Pankreas (Hund)	— 3,2	0	+ 4,2	0
Pankreas (Kaninchen) .	— 4,6	0	+ 3,4	0
Submaxillaris „ . .	— 4,1	0	+ 3,3	0
Thyreoidea (Ratte) . . .	— 13	0	+ 2,1	0

stand, die Tumoren, mit großer anaerober Glykolyse und im Vergleich zu ihr zu kleiner Atmung. Dies ist die Entwicklung der Tumoren, dargestellt von einem Beobachter, der die Tatsachen registriert und nicht nach den Zusammenhängen fragt.

V. Hypothese über die Entstehung der Tumoren.

Fragen wir nach den Zusammenhängen, so gehen wir zweckmäßigerweise davon aus, daß jedes Gewebe im stationären Zustande schwach glykolytisch wirksam ist. Nichts hindert uns daran, eine ungleichmäßige Verteilung der Glykolyse anzunehmen und einigen Zellen embryonale, der Hauptmenge der Zellen gar keine glykolytische Wirksamkeit zuzuschreiben. Wirkt auf ein derartiges Gemisch von Zellen Sauerstoffmangel — infolge von Druck, Sklerose der Gefäße, Anwesenheit von Bakterien oder anderen Umständen —, so *müssen* die Zellen, die die Fähigkeit der Glykolyse entbehren, zugrunde gehen, dagegen *können* die Zellen, die glykolytisch wirksam sind, weiterleben. Wir wollen annehmen, daß einige von ihnen es tatsächlich tun, also imstande sind, die bei der Glykolyse frei werdende Energie zu benutzen und auf ihre Kosten zu wachsen. Dann wird, wenn der Sauerstoffmangel chronisch wirkt, Gewebe von der glykolytischen Wirksamkeit des embryonalen Gewebes entstehen, aber, da unter Sauerstoffmangel gewachsen, von zu kleiner Atmung, d. h. Tumorgewebe. In der Tat wissen wir aus dem Versuch mit dem Embryo, daß Sauerstoffmangel vorwiegend die Atmung schädigt.

Diese Auffassung setzt an Stelle des unbestimmten Begriffs „Reiz“ den bestimmten Begriff „Sauerstoffmangel“. Nach ihr entstehen die Tumoren nicht aus versprengten embryonalen Keimen, sondern aus den differenzierten wachsenden Zellen, die ein integrierender Bestandteil jedes lebenden Gewebes sind. Indem der Sauerstoffmangel alle Zellen, die nicht glykolysieren, abtötet, steigt zwar die glykolytische Wirksamkeit des Gewebes, als ganzes betrachtet, nicht aber die glykolytische Wirksamkeit der einzelnen übrig bleibenden Zellen.

Unabhängig von der Frage nach der Entstehung der Tumoren ist eine zweite Frage, warum wachsendes Gewebe — sei es entstanden, wie es wolle — um so ungeordneter und schrankenloser wächst, je größer das Mißverhältnis zwischen Spaltungen und Oxydationen. Die Antwort auf diese Frage wollen wir zunächst schuldig bleiben.

VI. Keimepithel, Thymus, Lymphdrüsen.

Finden wir überall, wo Wachstum ist, Glykolyse, und überall, wo anormales Wachstum ist, aerobe Glykolyse, so ist es, wie wir nunmehr zeigen werden, nicht erlaubt, diese Sätze umzukehren. Es gibt Glykolyse ohne Wachstum und aerobe Glykolyse ohne anormales Wachstum.

Wir beginnen mit drei Gewebearten, die wir mit Hinblick auf ihren Stoffwechsel zu einer Gruppe zusammenfassen, Keimepithel, Thymus und lymphadenoidem Gewebe. Keimepithel und Thymus erreichen niemals den stationären Zustand, vom lymphadenoiden Gewebe wissen wir, daß es sich in einem labileren Zustande befindet als erwachsenes Bindegewebe oder Epithel. Es stimmt gut zu dem bisherigen, daß diese drei Gewebe eine größere anaerobe Glykolyse zeigen als ruhendes Bindegewebe und Epithel.

Keimepithel gewinnen wir, indem wir die Hoden von Ratten anschneiden und die Hodenschläuche aus ihren Hüllen herausdrücken. Wir wählen junge, aber schon geschlechtsreife Tiere, deren Hodenschläuche dünn genug sind (Durchmesser etwa 0,3 mm), um als solche, ohne weitere Zerteilung, für unsere Versuchsanordnung brauchbar zu sein.

Auch für die Thymusversuche benutzen wir Ratten, und zwar im Alter von 3 Wochen. Die Thymusdrüse besitzt dann ihre maximale Größe. Wir trennen das Organ in seine beiden Lappen und benutzen die intakten, nicht weiter zerteilten Lappen.

In Tabelle VI (Protokoll 14) haben wir eine Reihe von Versuchen zusammengestellt. Die Glykolyse in Stickstoff liegt zwischen 5 und 13, ist also kleiner als für embryonales Gewebe, aber größer als für stationäre Zustände. Den größten Wert zeigt die Rachenmandel eines Kindes.

Tabelle VI. Nichtstationäre Zustände.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 \cdot 10^{-2}$. 0,2 Proz. Glucose. 5 Proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

Gewebe	I	II	III	IV
	Q_{O_2} (Atmung)	$Q_{CO_2}^{O_2}$ (Glykolyse in Sauerstoff)	$Q_{CO_2}^{N_2}$ (Glykolyse in Stickstoff)	Aerobe Glykolyse / Atmung $\left(\frac{II}{I}\right)$
Thymus (3 Wochen alte Ratte)	— 5,8	+ 0,6	+ 8,2	0,1
Lymphdrüse (normale, Mensch)	— 3,8	+ 2,2	+ 4,7	0,58
Rachenmandel (normale, Mensch)	— 5,1	+ 3,4	+ 12,8	0,66
Hoden (Ratte)	— 12,3	+ 7,2	+ 8,5	0,59

Gehen wir von anaeroben zu aeroben Bedingungen über, so verschwindet für Thymus die Glykolyse fast vollständig, dagegen nicht für die übrigen Gewebe. Keimepithel und lymphadenoides Gewebe zeigen in Sauerstoff eine kleinere, aber immer noch beträchtliche Glykolyse. Das Verhältnis $\frac{\text{aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$ ist im Mittel 0,61. Der Stoffwechsel von Keimepithel und lymphadenoidem Gewebe[1]) ist unter aeroben Bedingungen nicht rein aerob, sondern gemischt anaerob-aerob. Nach der Größe des Verhältnisses $\frac{\text{aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$ eingeordnet, stehen sie zwischen embryonalem Gewebe und gutartigen Tumoren.

Wächst lymphadenoides Gewebe über seinen normalen Umfang, so steigt gleichzeitig die glykolytische Wirksamkeit. Wir haben im Laufe dieses Sommers eine Reihe hyperplastischer Mandeln von Kindern zur Untersuchung erhalten, blasse, stark vergrößerte Organe, die keine Merkmale der Entzündung zeigten. Die Ergebnisse haben wir in Tabelle VII (Protokoll 14) zusammengestellt. Sowohl die anaerobe als auch die aerobe Glykolyse ist groß, das Verhältnis $\frac{\text{aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$ ist 1 oder so wie für gutartige Tumoren.

VII. Graue Gehirnsubstanz und Netzhaut.

Ganz aus dem Rahmen des Bisherigen heraus fällt das Verhalten der grauen Gehirnsubstanz und eines nervösen Endorgans, der Netzhaut. Graue Gehirnsubstanz besitzt dieselbe glykolytische Wirksamkeit

[1]) Wie sich in letzter Zeit gezeigt hat, ist die *aerobe* Glykolyse des Keimepithels im Serum sehr viel kleiner als in Ringerlösung. Wir halten für wahrscheinlich, daß Keimepithel und lymphadenoides Gewebe unter ihren natürlichen Lebensbedingungen *aerob nicht* glykolysieren.

Tabelle VII.

Hyperplastische Mandeln.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 . 10^{-2}$. 0,2 Proz. Glucose. 5 Proz. CO_2.
$p_H = 7{,}66$.

		I	II	III	IV	V	VI
Nr.	Art des Gewebes	Q_{O_2} (Atmung)	$Q^{O_2}_{CO_2}$ (Glykolyse in Sauerstoff)	$Q^{N_2}_{CO_2}$ (Glykolyse in Stickstoff)	Hemmung d. Glykolyse durch Sauerstoff Proz.	*Meyerhof*-Quotient	Aerobe Glykolyse / Atmung $\left(\frac{II}{I}\right)$
1	Hyperplastische Rachenmandel . .	— 8,8	+ 9,5	+ 16,4	42	0,8	1,08
2	Hyperplastische Rachenmandel . .	— 6,6	+ 4,0	+ 21,6	82	2,7	0,61
3	Hyperplastische Rachenmandel . .	— 9,7	+ 10,4	+ 13,4	22	0,3	1,04
4	Hyperplastische Gaumenmandel .	—14,7	+ 15,9	+ 20,4	22	0,3	1,08
5	Hyperplastische Gaumenmandel .	— 9,4	+ 9,0	+ 17,9	50	1,0	0,95
6	Hyperplastische Gaumenmandel .	— 6,8	+ 6,1	+ 20	70	2,1	0,89
	Mittel:	— 9,8	+ 9,2	+ 18	48	1,2	*0,94*

wie der Embryo, Netzhaut eine viermal größere. Netzhaut, in zuckerhaltige körperwarme Ringerlösung gebracht, spaltet pro Stunde 35 Proz. ihres Gewichtes an Zucker zu Milchsäure.

Hier könnte man, um die Einheitlichkeit zu wahren, die Annahme machen, die Wachstumsruhe der Ganglienzellen und der Netzhaut sei in viel höherem Maße eine scheinbare als die Wachstumsruhe von Bindegewebe und Epithel. Wir wollen eine solche Annahme „ad hoc“ nicht machen, vielmehr schließen, daß der Organismus die anaerobe Spaltungsreaktion, über die er verfügt — die Spaltung von Kohlehydrat zu Milchsäure —, verschiedenen Zwecken dienstbar macht. Er verwendet sie im Muskel zur Gewinnung von mechanischer Arbeit, in der wachsenden Zelle zur Gewinnung von Substanz, er mag sie in anderen Fällen zu anderen Zwecken verwenden.

Graue Hirnrinde entnehmen wir dem Gehirn von Ratten, das sich leicht in widerstandsfähige dünne Schnitte schneiden läßt. Zur Gewinnung der Netzhaut der Ratte schneiden wir den Bulbus sofort nach dem Tode am Äquator auf, entfernen den Glaskörper und lösen die Netzhaut mit einem stumpfen Spatel von ihrer Unterlage ab. Die Präparation geschieht bei möglichst wenig Licht und in körperwarmer zuckerhaltiger Ringerlösung, die mit 5proz. Kohlensäure gesättigt ist. Das purpurn gefärbte Organ wird, ohne daß es erkaltet, in die Meßgefäße übertragen. Beim Bewegen der Meßgefäße bleiben Netzhäute von Ratten unversehrt, solche von Kaninchen werden leicht zer-

schüttelt und sind deshalb weniger brauchbar. Die Messung dauert etwa eine Stunde, nach dieser Zeit soll die purpurne Färbung erhalten sein.

Wir haben mehr als 20 Versuche mit Netzhaut ausgeführt und stets dieselbe Größenordnung der Glykolyse gefunden. Erkaltet die Netzhaut zwischen Präparation und Messung, so werden die Werte etwas, aber nicht wesentlich kleiner. Durch chemische Kontrollen[1]) haben wir uns auch in diesem Falle überzeugt, daß Äquivalenz besteht zwischen Extrakohlensäure und Milchsäure und Extrakohlensäure und Zuckerverbrauch.

In Tabelle VIII (Protokoll 15) ist je ein Beispiel für graue Gehirnsubstanz und Netzhaut mitgeteilt. Die Glykolyse in Stickstoff ist für Gehirn 19, für Netzhaut 88 (gegen Embryo und Tumoren 20 bis 30). Sauerstoff bringt die Milchsäure in Gehirnsubstanz zum Verschwinden, nicht aber in der Netzhaut, die auch in Sauerstoff gewaltige Mengen Milchsäure bildet (pro Stunde 18 Proz. ihres Gewichtes!). Der Meyerhofquotient ist in beiden Fällen normal, das Verhältnis $\frac{\text{aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$ für Gehirn klein, für Netzhaut groß. Die Atmung der Netzhaut ist 31 und damit größer als für irgend ein anderes von uns untersuchtes Gewebe[2]).

Tabelle VIII.

Graue Gehirnsubstanz und Netzhaut.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 \cdot 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

Gewebe	I	II	III	IV	V	VI
	Q_{O_2} (Atmung)	$Q_{CO_2}^{O_2}$ (Glykolyse in Sauerstoff)	$Q_{CO_2}^{N_2}$ (Glykolyse in Stickstoff)	Hemmung d. Glykolyse durch Sauerstoff Proz.	*Meyerhof*-Quotient	$\frac{\text{Aerobe Glykolyse}}{\text{Atmung}}$ $\left(\frac{II}{I}\right)$
Gehirn (graue Substanz, Ratte) . .	— 10,7	+ 2,5	+ 19,1	87	1,6	0,2
Netzhaut (Ratte) .	— 30,7	+ 45	+ 88	49	1,4	1,5

[1]) Für die chemischen Bestimmungen verwenden wir sechs Netzhäute (Gewicht einer Ratten-Netzhaut etwa 1,5 mg) und 10 ccm Ringerlösung und verfahren sonst, wie in der Anmerkung des Kapitels III beschrieben.

[2]) Die Retina des Frosches, die *anaerob* stark glykolysiert, bildet *aerob* keine Milchsäure. Wir vermuten, daß die Atmung der empfindlicheren Warmblüter-Retina bei Unterbrechung des Kreislaufs geschädigt wird, und daß die in vitro gefundene *aerobe* Glykolyse durch diese Schädigung bedingt ist.

Bedenkt man, wie verschiedenartig die Formelemente der Netzhaut sind, so wird man kaum annehmen können, daß alle Elemente in gleichem Maße zu dem besonderen Stoffwechsel des Organs beitragen. Rechnet man aber die glykolytische Wirkung des Organs auf einzelne seiner Teile um — etwa auf das Sinnesepithel —, so kommt man auf Werte, die inkommensurabel sind mit dem Stoffumsatz der übrigen Körperzellen.

VIII. Ammoniakbildung und Glykolyse.

Zum Schluß sei über einen merkwürdigen, in seiner Bedeutung noch unklaren Zusammenhang berichtet, der zwischen der glykolytischen Wirkung der Zelle und ihrer Wirkung auf stickstoffhaltige Substanzen besteht.

Bringt man Schnitte des *Flexner*schen Rattencarcinoms in körperwarme zuckerfreie Ringerlösung, so erscheinen beträchtliche Mengen Ammoniak. Hierbei handelt es sich nicht um eine Ausspülung von Ammoniak aus dem Gewebe, sondern um eine chemische Ammoniakbildung. Denn der Temperaturkoeffizient ist groß, beim Herabgehen auf 18° ist eine Ammoniakausscheidung nicht mehr wahrnehmbar.

Sind die Bedingungen bei dem Versuch aerob und mißt man mit der Ammoniakausscheidung gleichzeitig den Sauerstoffverbrauch, so findet man, daß etwa 1 Molekül Ammoniak erscheint, wenn 8 Moleküle Sauerstoff verschwinden, ein Verhältnis, wie es bei Eiweißverbrennung zu erwarten ist.

Sind die Bedingungen anaerob, so wird die Ammoniakausscheidung zwar kleiner, hört jedoch nicht auf, sondern sinkt nur auf etwa die Hälfte. Stammt nun, wie wir annehmen, das Ammoniak aus Eiweiß, so haben wir hier einen anaeroben Zerfall von Eiweiß vor uns.

Fügt man der Ringerlösung Zucker hinzu, so wird — sowohl aerob als auch anaerob — weniger Ammoniak ausgeschieden, oft verschwindet die Ammoniakausscheidung bei Zusatz von Zucker vollständig. Zucker schützt also Eiweiß nicht nur vor der Verbrennung, sondern auch vor dem anaeroben Zerfall (vgl. Protokoll 16).

Ähnlich wie der Rattentumor verhalten sich andere Gewebe, die stark glykolytisch wirksam sind, während Gewebe, die schwach glykolytisch wirken, nur wenig Ammoniak ausscheiden. Es besteht also nicht, wie man wohl denken könnte, eine Beziehung zur Größe der *Atmung*, sondern eine Beziehung zur Größe der *Glykolyse*.

In Tabelle IX (Protokoll 16) haben wir eine Reihe von Messungen zusammengestellt. In der ersten Spalte steht die Ammoniakausscheidung pro Milligramm Gewebe und Stunde, die in zuckerfreier Ringerlösung gefunden wurde, in der zweiten Spalte die glykolytische Wirksamkeit, und man erkennt, daß der Parallelismus zwar kein vollkommener, aber doch ein sehr weitgehender ist.

Tabelle IX.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 \cdot 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

	$\frac{\text{cmm } NH_3\text{[1]}}{\text{mg Gewebe} \times \text{Stunden}}$ in Sauerstoff und zuckerfreier Ringerlösung	$\frac{\text{cmm Extrakohlensäure}}{\text{mg Gewebe} \times \text{Stunden}}$ $(Q^{N_2}_{CO_2})$ in Stickstoff und zuckerhaltiger Ringerlösung
Schilddrüse (Ratte) . .	0	+ 2
Submaxillaris (Kaninchen)	0,03	+ 3
Leber (Ratte)	0,07	+ 3
Pankreas (Kaninchen) .	0,11	+ 3
Thymus (Ratte)	0,31	+ 8
Hoden (Ratte)	0,23	+ 8
Hühnerembryo (5 tägig)	0,56	+ 23
Rattencarcinom	0,8 bis 1,0	+ 31
Graue Gehirnsubstanz (Ratte)	1,4	+ 19
Netzhaut (Ratte) . . .	1,2	+ 88

Die einzige Ausnahme, die wir gefunden haben, betrifft die Niere. Niere, obwohl glykolytisch kaum wirksam, scheidet beträchtliche Mengen Ammoniak aus (0,9 cmm NH_3 pro Milligramm Gewebe und Stunde), doch handelt es sich hier, wie die Bestimmung des Temperaturkoeffizienten zeigte, nicht um eine chemische Ammoniakbildung, sondern um eine Auswaschung von Ammoniak aus dem Gewebe. In Übereinstimmung hiermit ist Zucker in diesem Falle ohne Wirkung auf die Ammoniakmenge, die erscheint.

---

[1]) Die Ammoniakmenge in Kubikmillimetern Gas ausgedrückt und somit den Q-Werten direkt vergleichbar.

IX. Protokolle.

Protokoll 1.

Einfluß des p_H auf die Glykolyse. Alte Anordnung. Rattencarcinom. 37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 6{,}2 . 10^{-3}$ Mole/Liter. 0,2proz. Glucose. v_G etwa 20 ccm.

Gasraum Vol.-Proz.	1 proz. CO_2 in N_2	2,4 proz. CO_2 in N_2	4,3 proz. CO_2 in N_2	15 proz. CO_2 in N_2
p_H nach *Hasselbalch* berechnet*)	7,83	7,45	7,20	6,66
Volumen der Ringerlösung in ccm	$v_F = 10$	$v_F = 10$	$v_F = 10$	$v_F = 10$
Gefäßkonstanten in qmm	$k_{CO_2} = 2{,}11$	$k_{CO_2} = 2{,}13$	$k_{CO_2} = 2{,}21$	$k_{CO_2} = 2{,}21$
Schnittgewichte	5,83 mg	10,74 mg	11,80 mg	12,70 mg
Druckänderung nach 45′	+ 34 mm	+ 51,5 mm	+ 48,0 mm	+ 31,5 mm
$Q_{CO_2}^{N_2}$	16,8	18,5	12,0	7,8

*) *Hasselbalch*, diese Zeitschr. 78, 126, 1917.

Protokoll 2.

Einfluß der Bicarbonatkonzentration auf die Glykolyse. Alte Anordnung. Rattencarcinom. 37,5°. Ringerlösung. 0,2proz. Glucose. v_G etwa 20 ccm.

Gasraum Vol.-Proz.	1 proz. CO_2 in N_2	2,4 proz. CO_2 in N_2	4,3 proz. CO_2 in N_2	15 proz. CO_2 in N_2
C_{NaHCO_3} in Molen/Liter	$3{,}1 . 10^{-3}$	$7{,}75 . 10^{-3}$	$15{,}5 . 10^{-3}$	$46{,}5 . 10^{-3}$
p_H nach *Hasselbalch* berechnet	7,56	7,54	7,55	7,43
Volumen der Ringerlösung in ccm	$v_F = 10$	$v_F = 10$	$v_F = 10$	$v_F = 10$
Gefäßkonstanten in qmm	2,48	2,46	2,46	2,64
Schnittgewichte	5,40 mg	4,95 mg	4,48 mg	5.72 mg
Druckänderung nach 60′	+ 29 mm	+ 35,5 mm	+ 46 mm	+ 56,5 mm
$Q_{CO_2}^{N_2}$	18,8	19,0	25,2	26,1

Protokoll 3.

Einfluß der Glucosekonzentration auf die Glykolyse. Rattencarcinom. 37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 . 10^{-2}$. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$. Neue Anordnung.

Gasraum Vol.-Proz.	5 proz. CO_2 in N_2	5 proz. CO_2 in N_2	5 proz. CO_2 in N_2
Glucosekonzentration	0,02 Proz.	0,067 Proz.	0,2 Proz.
Volumina in ccm	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 9{,}0$	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 10{,}7$	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 10{,}1$
Gefäßkonstanten in qmm	$k_{CO_2} = 0{,}96$	$k_{CO_2} = 1{,}1$	$k_{CO_2} = 1{,}06$
Schnittgewichte	2,23 mg	2,31 mg	2,08 mg
Druckänderung nach 15′	+ 9 mm	+ 15,5 mm	+ 19 mm
„ „ 30	+ 17,5 „	+ 29,5 „	+ 37,5 „
$Q_{CO_2}^{N_2}$	15	28,2	38,8

Protokoll 4.

Einfluß der Temperatur auf die Glykolyse. Rattencarcinom. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 . 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$. Neue Anordnung.

Gasraum Vol.-Proz.	5proz. CO_2 in N_2	5proz. CO_2 in N_2	5proz. CO_2 in N_2	5proz. CO_2 in N_2	5proz. CO_2 in N_2
Temperatur	20° C	25° C	32° C	37° C	25° C
Volumina in ccm	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 10{,}7$	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 10{,}7$	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 10{,}7$	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 10{,}7$	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 10{,}7$
Gefäßkonstant. i. qmm	$k_{CO_2} = 1{,}30$	$k_{CO_2} = 1{,}21$	$k_{CO_2} = 1{,}16$	$k_{CO_2} = 1{,}11$	$k_{CO_2} = 1{,}21$
Schnittgewichte	8,4 mg	8,4 mg	8,4 mg	8,4 mg	8,4 mg
Druckänderung	nach 60': + 36,5 mm	nach 30': + 34 mm	nach 10': + 24 mm	nach 10': + 32 mm	nach 15': + 16,5 mm
$Q_{CO_2}^{N_2}$	5,7	9,8	20,0	25,0	9,5

Protokoll 5.

α- und β-Glucose. Rattencarcinom. Besondere Anordnung, siehe Text. 37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 . 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

Gasraum Vol.-Proz.	5proz. CO_2 in N_2 α-Glucose	5proz. CO_2 in N_2 β-Glucose
Volumina in ccm	$v_F = 2{,}0$ $v_G = 17{,}0$	$v_F = 2{,}0$ $v_G = 17{,}1$
Gefäßkonstanten in qmm	$k_{CO_2} = 1{,}60$	$k_{CO_2} = 1{,}61$
Schnittgewichte	11,4 mg	11,0 mg
Druckänderung nach 5'	+ 8 mm	+ 7 mm
„ „ 10	+ 18 „	+ 15 „
$Q_{CO_2}^{N_2}$	15,2	13,2

Protokoll 6.

Verwandlung von Methylglyoxal in Milchsäure durch Rattencarcinom und Rattenleber. Alte Anordnung. 37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 . 10^{-2}$. *Ohne* Zucker. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$. v_G etwa 3 ccm.

Gasraum Vol.-Proz.	5proz. CO_2 in N_2 ohne Gewebe	5proz. CO_2 in N_2 Leber	5proz. CO_2 in N_2 Carcinom
Volumen der Ringerlösung in ccm	$v_F = 0{,}5$	$v_F = 0{,}5$	$v_F = 0{,}5$
Gefäßkonstanten in qmm	$k_{CO_2} = 0{,}37$	$k_{CO_2} = 0{,}39$	$k_{CO_2} = 0{,}34$
Methylglyoxal	m/100	m/100	m/100
Schnittgewichte	—	2,22 mg	1,15 mg
Druckänderung nach 30'	+ 2,5 mm	+ 74 mm	+ 49 mm
$Q_{CO_2}^{N_2}$	—	24	29

Protokoll 7.

Rattencarcinom. Q_{O_2}, $Q^{O_2}_{CO_2}$ und $Q^{N_2}_{CO_2}$.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2,5 \cdot 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2.
$p_H = 7,66$.

Gasraum	5proz. CO_2 in O_2		5proz. CO_2 in N_2
	Gefäß A	Gefäß B	Gefäß C
Volumina in ccm	$v_F = 3$ $v_G = 10,54$	$v_F = 8$ $v_G = 5,07$	$v_F = 3$ $v_G = 9,28$
Gefäßkonstanten in qmm	$k_{O_2} = 0,93$ $k_{CO_2} = 1,09$	$K_{O_2} = 0,47$ $K_{CO_2} = 0,89$	$k_{CO_2} = 0,98$
Versuch 18 der Tabelle I: Schnittgewichte	3,01 mg	3,32 mg	2,35 mg
Beobacht. Druckänderung in 15'	$h = +15$ mm	$H = +15,5$ mm	$h_{CO_2} = +17,5$ mm
Beobacht. Druckänderung in 15'	$h = +15$ „	$H = +14,0$ „	$h_{CO_2} = +18,0$ „
Beobacht. Druckänderung in 15'	$h = +16$ „	$H = +14,5$ „	$h_{CO_2} = +17,5$ „
	$\gamma = -3,65$ $Q_{O_2} = -8,9$ $Q^{O_2}_{CO_2} = +23,7$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +27,3$
Versuch 19 der Tabelle I: Schnittgewichte	1,86 mg	1,71 mg	1,81 mg
Beobacht. Druckänderung in 15'	$h = +10,5$ mm	$H = +12,0$ mm	$h_{CO_2} = +16,0$ mm
Beobacht. Druckänderung in 15'	$h = +10,0$ „	$H = +9,0$ „	$h_{CO_2} = +15,0$ „
Beobacht. Druckänderung in 15'	$h = +11,5$ „	$H = +11,0$ „	$h_{CO_2} = +16,0$ „
	$\gamma = -7,36$ $Q_{O_2} = -4,05$ $Q^{O_2}_{CO_2} = +25,7$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +33,8$

Protokoll 8.

Rattencarcinom in Blausäure.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2,5 \cdot 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2.
$p_H = 7,66$.

	Gefäß B 10^{-3} n HCN 5proz. CO_2 in O_2	Gefäß A 10^{-3} n HCN 5proz. CO_2 in O_2	Gefäß C — 5proz. CO_2 in N_2
Volumina in ccm	$v_F = 8,0$ $v_G = 5,02$	$v_F = 3,0$ $v_G = 9,0$	$v_F = 3,0$ $v_G = 10,7$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0,46$ $K_{CO_2} = 0,89$	$k_{O_2} = 0,8$ $k_{CO_2} = 0,96$	$k_{CO_2} = 1,11$
Schnittgewichte	7,10 mg	6,4 mg	6,82 mg
Druckänderung in 15'	$H = +69,5$ mm	$h = +60,0$ mm	$h_{CO_2} = +52,5$ mm
	$-\gamma$ sehr groß		
	$Q^{O_2}_{CO_2} = +36$	$Q^{O_2}_{CO_2} = +35$	$Q^{N_2}_{CO_2} = +34$

Protokoll 9.

Menschliche Carcinome.

37,5°. Ringerlösung. $c_{NaHCO_3} = 2{,}5 . 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

Gasraum	5 proz. CO_2 in O_2		5 proz. CO_2 in N_2
	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Volumina in ccm	$v_F = 8$ $v_G = 4{,}92$	$v_F = 3$ $v_G = 10{,}9$	$v_F = 3$ $v_G = 9{,}5$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0{,}45$ $K_{CO_2} = 0{,}88$	$k_{O_2} = 0{,}97$ $k_{CO_2} = 1{,}13$	$k_{CO_2} = 1{,}00$
Scirrhus-Carcinom des Rectum			
Schnittgewichte	2,12 mg	3,54 mg	2,36 mg
Beobachtete Druckänderung in 30'	$H = + 7{,}5$ mm	$h = + 13$ mm	$h_{CO_2} = + 23{,}5$ mm
Berechnet für 60' und 2,12 mg	$H = + 15$ „	$h = + 15{,}6$ „	$h_{CO_2} = + 42{,}2$ „
	$\gamma = -4{,}35$ $Q_{O_2} = -2{,}6$ $Q^{O_2}_{CO_2} = + 8{,}7$		$Q^{N_2}_{CO_2} = + 19{,}9$
Kehlkopfcarcinom			
Schnittgewichte	8,76 mg	11,4 mg	12,8 mg
Beobachtete Druckänderung in 15'	$H = + 19{,}5$ mm	$h = + 26{,}5$ mm	$h_{CO_2} = + 68$ mm
Beobachtete Druckänderung in 15'	$H = + 18{,}5$ „	$h = + 25{,}5$ „	$h_{CO_2} = + 67$ „
Berechnet für 60' und 8,76 mg	$H = + 76$ „	$h = + 80$ „	$h_{CO_2} = + 184$ „
	$\gamma = - 4{,}24$ $Q_{O_2} = - 3{,}3$ $Q^{N_2}_{CO_2} = + 10{,}8$		$Q^{N_2}_{CO_2} = + 21{,}2$

Protokoll 10.

Blasenpapillom, Nasenpolyp.

37,5°. Ringerlösung. $c_{NaHCO_3} = 2{,}5 . 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Gasraum	5 proz. CO_2 in O_2	5 proz. CO_2 in O_2	5 proz. CO_2 in N_2
Gefäßvolumina in ccm	$v_F = 8$ $v_G = 4{,}92$	$v_F = 3$ $v_G = 8{,}4$	$v_F = 3$ $v_G = 8{,}4$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0{,}45$ $K_{CO_2} = 0{,}88$	$k_{O_2} = 0{,}75$ $k_{CO_2} = 0{,}91$	$k_{CO_2} = 0{,}91$
Blasenpapillom			
Schnittgewichte	2,03 mg	4,12 mg	2,93 mm
Druckänderung in 15'	$H = + 1$ mm	$h = + 18$ mm	$h_{CO_2} = + 21{,}5$ mm
„ „ 15	$H = + 0{,}5$ „	$h = + 17$ „	$h_{CO_2} = + 21{,}5$ „
„ „ 15	$H = + 1{,}5$ „	$h = + 16{,}5$ „	$h_{CO_2} = + 21{,}5$ „
	$\gamma = - 2{,}04$ $Q_{O_2} = - 18{,}6$ $Q^{O_2}_{CO_2} = + 19{,}5$		$Q^{N_2}_{CO_2} = + 26{,}7$
Nasenpolyp			
Schnittgewichte	5,03 mg	4,27 mg	3,56 mg
Druckänderung nach 60'	$H = + 7$ mm	$h = + 20$ mm	$h_{CO_2} = + 56{,}8$ mm
	$\gamma = -2{,}25$ $Q_{O_2} = -4{,}2$ $Q^{O_2}_{CO_2} = + 5{,}3$		$Q^{N_2}_{CO_2} = + 14{,}9$

Protokoll 11.

Hühnerembryonen.

Die Embryonen kamen in ihren Fruchthüllen in die Ringerlösung, nach einer Bebrütungsdauer von 3½ Tagen. Vor Beginn des Versuchs 2 waren die Embryonen 2 Stunden in Ringerlösung, $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 . 10^{-2}$ 0,2 Proz. Glucose. 5 Proz. CO_2 in N_2. Sie wurden innerhalb dieser Zeit in der Lösung bewegt.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 . 10^{-2}$. 0,2proz. Gluoose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

Nr.	Gasraum	5proz. CO_2 in O_2		5proz. CO_2 in N_2
		Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
	Volumina in ccm . . .	$v_F = 8$ $v_G = 5$	$v_F = 3$ $v_G = 9$	$v_F = 3$ $v_G = 10{,}1$
	Gefäßkonstanten i. qmm	$K_{O_2} = 0{,}46$ $K_{CO_2} = 0{,}89$	$k_{O_2} = 0{,}8$ $k_{CO_2} = 0{,}96$	$k_{CO_2} = 1{,}06$
1	Gewichte d. Embryonen	1 Embryo 2,17 mg	2 Embryonen 3,32 mg	
	Druckänderung nach 45′	$H = -14{,}7$ mm	$h = -2$ mm	
	" " 60	$H = -20{,}0$ "	$h = -3$ "	
		$\gamma = -1{,}1$		
		$Q_{O_2} = -10$		
		$Q^{O_2}_{CO_2} = +1{,}1$		
		Dieselben in n/1000 HCN, 5proz. CO_2 in O_2		
	Druckänderung nach 15′	$H = +5{,}5$ mm	$h = +10$ mm	
	" " 30	$H = +10{,}5$ "	$h = +19{,}5$ "	
		$\gamma = -4{,}37$		
		$Q_{O_2} = -3{,}6$		
		$Q^{O_2}_{CO_2} = +12$		
		Embryonen derselben Zucht nach 2 Stunden Sauerstoffmangel		
2	Gewichte d. Embryonen	2 Embryonen 3,52 mg	1 Embryo 2,17 mg	3 Embryonen 5,69 mg
	Druckänderung nach 30′	$H = +1$ mm	$h = +6{,}5$ mm	$h_{CO_2} = +59$ mm
	" " 60	$H = 0$ "	$h = +12$ "	
		$\gamma = -1{,}94$		
		$Q_{O_2} = -7{,}2$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +20{,}6$
		$Q^{O_2}_{CO_2} = +6{,}8$		

Protokoll 12. Schilddrüse, Submaxillaris, Leber.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 \cdot 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Gasraum	5 proz. CO_2 in O_2	5 proz. CO_2 in O_2	5 proz. CO_2 in N_2
Volumina in ccm	$v_F = 8{,}0$ $v_G = 5{,}0$	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 9{,}0$	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 7{,}75$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0{,}46$ $K_{CO_2} = 0{,}89$	$k_{O_2} = 0{,}8$ $k_{CO_2} = 0{,}96$	$k_{CO_2} = 0{,}85$
Schilddrüse, Ratte: Gewichte	3,06 mg	2,80 mg	3,27 mg
Schilddrüse, Ratte: Druckänderung nach 60′	$H = -47$ mm	$h = -12$ mm	$h_{CO_2} = +8$ mm
	$\gamma = -0{,}87$ $Q_{O_2} = -12{,}9$ $Q^{O_2}_{CO_2} = 0$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +2{,}1$
Submaxillaris, Kaninchen: Gewichte	7,8 mg	7,27 mg	5,46 mg
Submaxillaris, Kaninchen: Druckänderung nach 30′	$H = -20{,}5$ mm	$h = -7{,}0$ mm	$h_{CO_2} = +12$ mm
„ „ 60	$H = -41{,}5$ „	$h = -13{,}0$ „	$h_{CO_2} = +21$ „
	$\gamma = -0{,}78$ $Q_{O_2} = -4{,}1$ $Q^{O_2}_{CO_2} = 0$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +3{,}3$

	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Gasraum	5 proz. CO_2 in O_2	5 proz. CO_2 in O_2	5 proz. CO_2 in N_2
Volumina in ccm	$v_F = 8$ $v_G = 5{,}07$	$v_F = 3$ $v_G = 10{,}5$	$v_F = 3$ $v_G = 9{,}28$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0{,}47$ $K_{CO_2} = 0{,}89$	$k_{O_2} = 0{,}93$ $k_{CO_2} = 1{,}09$	$k_{CO_2} = 0{,}98$
Leber, Ratte: Schnittgewichte	4,14 mg	4,53 mg	3,97 mg
Leber, Ratte: Druckänderung nach 60′	$H = -46{,}0$ mm	$h = -6{,}5$ mm	$h_{CO_2} = +13{,}5$ mm
	$\gamma = -1{,}05$ $Q_{O_2} = -11{,}6$ $Q^{O_2}_{CO_2} = +0{,}6$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +3{,}3$

Protokoll 13. Niere, Pankreas.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2{,}5 \cdot 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Gasraum	5 proz. CO_2 in O_2	5 proz. CO_2 in O_2	5 proz. CO_2 in N_2
Volumina in ccm	$v_F = 8{,}0$ $v_G = 3{,}9$	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 8{,}76$	$v_F = 3{,}0$ $v_G = 8{,}4$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0{,}36$ $K_{CO_2} = 0{,}79$	$k_{O_2} = 0{,}78$ $k_{CO_2} = 0{,}94$	$k_{CO_2} = 0{,}90$
Niere, Ratte: Schnittgewichte	1,61 mg	1,73 mg	1,95 mg
Niere, Ratte: Druckänderung	45′ $H = -43{,}0$ mm	45′ $H = -10{,}5$ mm	75′ $h_{CO_2} = +9{,}5$ mm
	$\gamma = -0{,}83$ $Q_{O_2} = -20{,}7$ $Q^{O_2}_{CO_2} = 0$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +3{,}2$

Protokoll 13. (Fortsetzung.)

	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Gasraum	5 proz. CO_2 in O_2	5 proz. CO_2 in O_2	5 proz. CO_2 in N_2
Volumina in ccm	$v_F = 8,0$ $v_G = 4,92$	$v_F = 3,0$ $v_G = 8,4$	$v_F = 3,0$ $v_G = 8,4$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0,45$ $K_{CO_2} = 0,88$	$k_{O_2} = 0,75$ $k_{CO_2} = 0,91$	$k_{CO_2} = 0,91$
Pankreas, Hund: Gewichte	8,57 mg	8,81 mg	6,64 mg
Druckänderung nach 60′	$H = -32$ mm	$h = -9,3$ mm	$h_{CO_2} = +30,7$ mm
	$\gamma = -0,90$ $Q_{O_2} = -3,2$ $Q^{O_2}_{CO_2} = 0$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +4,2$

Protokoll 14.

Thymus, Hoden, lymphadenoides Gewebe.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2,5 . 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7,66$.

	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Gasraum	5proz. CO_2 in O_2	5proz. CO_2 in O_2	5proz. CO_2 in N_2
Volumina in ccm	$v_F = 8,0$ $v_G = 5,0$	$v_F = 3,0$ $v_G = 9,0$	$v_F = 3,0$ $v_G = 7,75$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0,46$ $K_{CO_2} = 0,89$	$k_{O_2} = 0,8$ $k_{CO_2} = 0,96$	$k_{CO_2} = 0,85$
Hoden, Ratte (einige Monate alt): Gewicht der Schläuche	4,39 mg	3,49 mg	2,01 mg
Druckänderung nach 30′	$H = -10$ mm	$h = +9$ mm	$h_{CO_2} = +10$ mm
" " 60	$H = -21$ "	$h = +17$ "	$h_{CO_2} = +20$ "
	$\gamma = -1,58$ $Q_{O_2} = -12,3$ $Q^{O_2}_{CO_2} = +7,2$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +8,5$
Thymus, Ratte (6 Wochen alt): Gewichte der Lappen	5,23 mg	3,80 mg	3,55 mg
Druckänderung nach 60′	$H = -28$ mm	$h = -2$ mm	$h_{CO_2} = +34$ mm
	$\gamma = -1,1$ $Q_{O_2} = -5,8$ $Q^{O_2}_{CO_2} = +0,6$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +8,2$

	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Gasraum	5proz. CO_2 in O_2	5proz. CO_2 in O_2	5proz. CO_2 in N_2
Volumina in ccm	$v_F = 8,0$ $v_G = 4,92$	$v_F = 3,0$ $v_G = 10,9$	$v_F = 3,0$ v_G 8,4
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0,45$ $K_{CO_2} = 0,88$	$k_{O_2} = 0,97$ $k_{CO_2} = 1,13$	$k_{CO_2} = 0,91$
Normal. Lymphdrüse d. Mensch.: Gewichte	5,86 mg	3,30 mg	2,42 mg
Druckänderung nach 60′	$H = -9,5$ mm	$h = +4,5$ mm	$h_{CO_2} = +13,5$ mm
	$\gamma = -1,58$ $Q_{O_2} = -3,8$	$Q^{O_2}_{CO_2} = +2,2$	$Q^{N_2}_{CO_2} = +4,7$

Protokoll 14. (Fortsetzung.)

	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Gasraum	5proz. CO_2 in O_2	5proz. CO_2 in O_2	5proz. CO_2 in N_2
Volumina in ccm	$v_F = 8,0$ $v_G = 4,92$	$v_F = 3,0$ $v_G = 10,9$	$v_F = 3,0$ $v_G = 9,5$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0,45$ $K_{CO_2} = 0,88$	$k_{O_2} = 0,97$ $k_{CO_2} = 1,13$	$k_{CO_2} = 1,00$
Hyperplast. Rachenmandel eines Kindes: Gewichte	3,99 mg	5,19 mg	7,57 mg
Druckänderung nach 30′	$H = + 2,5$ mm	$h = + 18,5$ mm	$h_{CO_2} = + 62$ mm
	$\gamma = -2,08$ $Q_{O_2} = -8,8$ $Q^{O_2}_{CO_2} = +9,5$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +16,4$

Protokoll 15.

Graue Gehirnsubstanz und Netzhaut.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2,5 \cdot 10^{-2}$. 0,2proz. Glucose. 5proz. CO_2. $p_H = 7,66$.

	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Gasraum	5proz. CO_2 in O_2	5proz. CO_2 in O_2	5proz. CO_2 in N_2
Volumina in ccm	$v_F = 8$ $v_G = 5,07$	$v_F = 3$ $v_G = 10,5$	$v_F = 3$ $v_G = 9,28$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0,47$ $K_{CO_2} = 0,89$	$k_{O_2} = 0,93$ $k_{CO_2} = 1,09$	$k_{CO_2} = 0,98$
Schnitt an dem Großhirn der Ratte: Schnittgewichte	3,91 mg	4,83 mg	3,89 mg
Druckänderung in 15′	$H = -7,5$ mm	$h = +0,5$ mm	$h_{CO_2} = +19,5$ mm
" " 15	$H = -8,0$ "	$h = +1,0$ "	$h_{CO_2} = +18,5$ "
	$\gamma = -1,23$ $Q_{O_2} = -10,7$ $Q^{O_2}_{CO_2} = +2,5$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +19,1$

	Gefäß B	Gefäß A	Gefäß C
Gasraum	5proz. CO_2 in O_2	5proz. CO_2 in O_2	5proz. CO_2 in N_2
Volumina in ccm	$v_F = 8,0$ $v_G = 5,0$	$v_F = 3,0$ $v_G = 9,0$	$v_F = 3,0$ $v_G = 9,0$
Gefäßkonstanten in qmm	$K_{O_2} = 0,46$ $K_{CO_2} = 0,89$	$k_{O_2} = 0,8$ $k_{CO_2} = 0,96$	$k_{CO_2} = 0,96$
Netzhaut der Ratte: Gewicht der Netzhaut	1,93 mg	1,58 mg	1,58 mg
Druckänderung	45′ $H = +27$ mm	45′ $h = +48$ mm	15′ $h_{CO_2} = +36$ mm
	$\gamma = -2,47$ $Q_{O_2} = -30,7$ $Q^{O_2}_{CO_2} = +45$		$Q^{N_2}_{CO_2} = +87,5$

Protokoll 16.

Ammoniakausscheidung durch Rattencarcinom und Netzhaut.

Ringerlösung. $c_{NaHCO_3} = 2{,}5 \cdot 10^{-2}$. 5proz. CO_2. $p_H = 7{,}66$.

	Temperatur °C	Versuchszeit Min.	5 Proz. CO_2 in	Glucosegehalt der Ringerlösung Proz.	Gewebegewicht mg	An die Ringerlösung abgegebene Ammoniakmenge in ccm n/1000 NH_3	cmm NH_3 (0° 760 mm) / mg Gewebe × Stunden
Carcinom (Ratte)	18	60	O_2	—	52	0	0
	37,5	60	O_2	—	16,5	0,6	0,81
	37,5	60	O_2	—	25,2	0,86	0,77
	37,5	60	O_2	—	23,6	1,06	1,0
	37,5	60	O_2	0,2	36,4	0,26	0,16
	37,5	60	N_2	—	31,7	0,66	0,46
	37,5	60	N_2	—	18,4	0,4	0,48
	37,5	60	N_2	—	20,4	0,46	0,51
Netzhaut (Ratte)	18	60	O_2	—	12	0	0
	37,5	60	O_2	—	22,8	1,2	1,2
	37,5	60	O_2	0,2	24,3	0,06	0,06
	37,5	60	N_2	—	12,3	0,36	0,64
	37,5	60	N_2	—	14,9	0,46	0,68
	37,5	60	N_2	0,2	15,1	0,02	0,06
	37,5	60	N_2	0,2	16,8	0	0

Anmerkung: Zur Bestimmung der Ammoniakausscheidung bringen wir 15 bis 30 mg Gewebe in 6 ccm Ringerlösung, sättigen mit 5 Vol.-Proz. Kohlensäure in Sauerstoff oder Stickstoff und schütteln wie bei den manometrischen Messungen. Nach 1 Stunde nehmen wir die Schnitte heraus, trocknen und wägen sie und messen in der Ringerlösung das Ammoniak nach *Folin*. Wir fügen 3 Tropfen 10proz. Natriumwolframatlösung hinzu, säuren mit einigen Tropfen n Salzsäure an (Kongo) und zentrifugieren von einigen ausgeschiedenen Flocken ab. Die überstehende Flüssigkeit bringen wir in einen *Folin*schen Kolben, setzen 2 Tropfen Paraffin und 2 ccm 10proz. Natriumcarbonatlösung hinzu, treiben das Ammoniak durch einen Luftstrom in eine Vorlage, die 5 ccm Wasser und 5 Tropfen n Salzsäure enthält, und bestimmen den Ammoniakgehalt der Vorlage kolorimetrisch nach *Nessler*.

Über eine einfache klinische Mikromethode der Natriumbestimmung im Blutserum[1].

Von

Ferdinand Lebermann.

(Aus dem Laboratorium der Universitäts-Augenklinik Würzburg.)

(Eingegangen am 13. September 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Welche Rolle der Hauptrepräsentant der Kationen des Blutserums das Natrium, im Mineral- und Wasserhaushalt des Organismus, in der Erforschung und Behandlung der Nierenerkrankungen, im Aufbau und der Zusammensetzung der Gewebe spielt, braucht hier wohl kaum erörtert zu werden. Jedenfalls bedarf man zur Orientierung über alle diese Fragen einer Möglichkeit, die Natriummenge des Blutserums sowie des Gesamtblutes sehr genau bestimmen zu können, was indes bei der leichten Löslichkeit fast aller Natriumsalze und der geringen Zahl der quantitativen Nachweise des Natriums überhaupt schon von vornherein als ziemlich schwierig erscheinen muß.

Unter den Mikromethoden für die Natriumbestimmung im Blutserum haben sich bisher vor allem zwei besonders bewährt; sie beide wägen das als saures Natriumpyroantimonat, $Na_2H_2Sb_2O_7$, gefällte Natrium. Das eine dieser Verfahren stammt von *Kramer-Tisdall*[2]), das andere von *Richter-Quittner*[3]); von dem ersteren wird unten noch ausführlicher die Rede sein. Hier nur so viel: Die, allerdings technisch nicht einfachen und ziemlich umständlichen Verfahren arbeiten mit einer vollkommen ausreichenden Genauigkeit; doch bedarf man zu der Gewichtsanalyse einer Ausgangsmenge von mindestens 2 ccm Serum. Schon aus dem letzteren Grunde war es mir, als ich auf Veranlassung des Herrn Geheimrat *Wessely* das Natrium als

---

[1]) Eine vorläufige Mitteilung erschien bereits in der Klinischen Wochenschrift.

[2]) *Kramer-Tisdall*, Journ. of biol. Chem. **46**, 467, 1921.

[3]) *Richter-Quittner*, diese Zeitschr. **133**, 417, 1922.

solches in Kammerwasser und Glaskörper zu bestimmen versuchte, von vornherein klar, daß eine solche Gewichtsanalyse für diesen Zweck gar nicht in Betracht käme; denn eine Menge von 2 ccm Kammerwasser aus einem Auge dürfte kaum je zur Verfügung stehen. Es handelte sich also darum, ein Natriumbestimmungsverfahren auszuarbeiten, das sich mit Ausgangsmengen unter ½ ccm Flüssigkeit begnügen kann, ohne dadurch allzuviel an Genauigkeit einzubüßen. Über die Ergebnisse der Natriumbestimmung in den Augenflüssigkeiten will ich indes gesondert berichten und hier nur die Anwendung der Methode auf das Blutserum, die ich gewissermaßen als Voruntersuchung für die Analyse des Kammerwassers und der Glaskörperflüssigkeit ausführte, etwas näher beschreiben.

Das *Prinzip* der Bestimmung ist folgendes: *Das Natrium wird in der zu untersuchenden Flüssigkeit — Kochsalzlösung, Serum, Kammerwasser usw. — als saures Natriumpyroantimonat gefällt und die so entstandene Aufschwemmung des schwer löslichen Salzes nach der Intensität der Trübung durch Einordnung in eine aus Natriumchloridlösungen von genau bekanntem Natriumgehalt hergestellte Vergleichstrübungsskala bestimmt.*

Nötig ist hierzu das sogenannte *Kaliumpyroantimonatreagens*, das genau nach der Originalvorschrift von *Kramer-Tisdall* hergestellt wird: Man erhitzt 500 ccm Wasser im Hartglaskolben, fügt etwa 10 g Kaliumpyroantimonat hinzu, kocht noch 3 bis 5 Minuten, kühlt sofort unter strömendem Wasser ab und fügt nach Abkühlen 15 ccm 10proz. Kalilauge (in Alkohol gewaschen) hinzu. Man filtriert durch ein aschefreies Filter in eine paraffinierte Flasche. Der feine Niederschlag läuft manchmal durchs Filter, setzt sich aber nach 24 Stunden vollständig ab, so daß man die überstehende klare Lösung benutzen kann. Das Reagens ist bei Zimmertemperatur mindestens einen Monat haltbar; *10 ccm fällen etwa 11 mg Natrium.* Zur Probe auf Reinheit fügt man zu 10 ccm des Reagens 2 ccm Wasser und 3 ccm 95proz. Alkohol zu; es darf kein Niederschlag bemerkbar sein.

Nun hat man sich zunächst eine *Vergleichstrübungsskala* herzustellen aus Natriumchloridlösungen von genau bekanntem Gehalt an Natrium. Zu diesem Zwecke fällt man die Kochsalzlösungen mit so viel Kaliumpyroantimonatreagens, daß auf 1,0 mg Natrium mindestens 1 ccm davon trifft; alsdann setzt man etwas 95proz. Alkohol — für 1,0 mg Natrium etwa 0,5 ccm — zu, schüttelt gehörig um und führt dann die trüben Flüssigkeiten in Kolorimeterröhrchen (von 15 mm lichtem Durchmesser, mit Marken bei 5, 10 und 15 ccm, flachem Boden und Ausguß; zu beziehen von Firma *Hoepfner*, Nürnberg, Bönerstraße 6), wie ich sie schon zu meiner früher beschriebenen Kaliumbestimmung benutzte[1]), über und füllt das Ganze mit destilliertem Wasser, dem etwas Alkohol zugesetzt ist, auf 10 ccm auf, bzw. man kann die

[1]) *Lebermann*, diese Zeitschr. 150, H. 5/6, S. 548, 1924.

Fällung auch direkt in dem Kolorimeterröhrchen ausführen und dann auffüllen, alles unter mehrfachem kräftigen Umschütteln; auf diese außerordentlich einfache Weise kann man sich schon eine Skala herstellen, die auch die feineren Unterschiede recht deutlich erkennen läßt.

Als exakter empfiehlt sich indes folgendes Verfahren: Die Fällung wird in einem gewöhnlichen Zentrifugenglas vorgenommen; nach $^3/_4$stündigem Stehen wird mindestens $^1/_4$ Stunde zentrifugiert, dann die über dem weißen Niederschlag stehende, völlig klare Flüssigkeit vorsichtig abgesaugt, soweit es möglich ist, ohne den Niederschlag aufzurühren; alsdann wird etwas 30proz. Alkohol — für die hier in Frage kommenden Mengen 1 bis 3 ccm — zugegeben und 5 Minuten lang zentrifugiert, der Alkohol abgesaugt und dieses Waschen noch

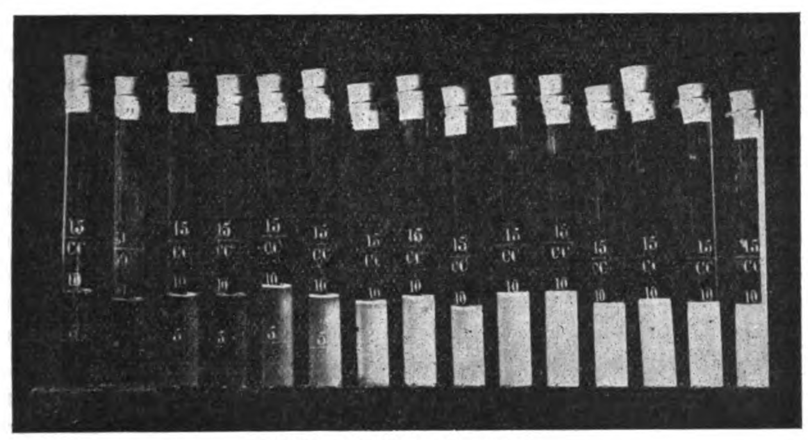


Abb. 1. Vergleichstrübungsskala.

zweimal wiederholt. Nach dem Absaugen der letzten Waschflüssigkeit wird der Niederschlag mit etwas alkoholhaltigem Wasser gründlich aufgeschwemmt und unter mehrfachem Nachwaschen mit diesem Wasser in das oben beschriebene Kolorimeterröhrchen übergeführt, das zum Schluß genau bis zur Marke 10 ccm gefüllt sein muß; hernach wird das Röhrchen samt Inhalt nochmals kräftig umgeschüttelt.

Die Aufstellung der Skala geschieht auf einem länglichen, schwarz gestrichenen Holzblock, in den Löcher gebohrt sind zur Aufnahme der Röhrchen, und an welchem ein schwarzer Schirm (schwarzes Glanzpapier, auf Pappdeckel aufgezogen) befestigt ist, so daß die Unterschiede der Trübungsintensität bei auffallendem Lichte eine optimale Deutlichkeit erlangen.

Die Vergleichstrübungsskala umfaßt Natriummengen zwischen 0,1 (0,05) und 2,0 mg Natrium; sie darüber hinaus auszudehnen, ist nicht zweckmäßig, weil dann die Trübungsunterschiede viel zu un-

deutlich werden. Von 0,1 bis 1,0 mg Natrium ist sie eingeteilt in Abstufungen zu je 0,1 mg, von da bis 2,0 mg in solche zu je 0,2 mg Natrium. Abb. 1[1]) zeigt eine solche Skala in der Photographie. Für ganz subtile Bestimmungen, z. B. in kleinsten Mengen Serum oder Kammerwasser (s. unten), empfiehlt es sich, für die Stufen von 0,1 bis 0,5 mg Natrium noch je eine Zwischenstufe einzuschalten, so daß dann eine Abstufung zu je 0,05 mg Natrium entsteht. Eine so vervollständigte Skala würde dann folgendermaßen aussehen:

Röhrchen . .	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
mg Na . . .	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5
Röhrchen . .	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX
mg Na . . .	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0

Dabei sind die Röhrchen I bis VII auf 5, alle übrigen auf 10 ccm aufgefüllt.

Man kann alsdann bei Mengen unter 0,5 mg Natrium durch Schätzen zwischen zwei Stufen der Skala sogar noch Differenzen von 0,025 mg Natrium festlegen, allerdings nicht ohne eine gewisse Übung; damit dürfte aber auch für das Verfahren in der vorliegenden Form die äußerste Genauigkeitsgrenze erreicht sein. Es ist dabei ratsam, die kleinsten Werte der Skala nicht auf 10, sondern nur auf 5 ccm aufzufüllen, wodurch die Unterschiede in der Trübungsintensität noch deutlicher werden. Die Kolorimeterröhrchen der Skala sind, ebenso wie die mit der zu bestimmenden unbekannten Lösung, vor jeder Benutzung sorgfältig umzuschütteln. Solange sie nicht zum Vergleich gebraucht werden, sind sie gut verschlossen zu halten.

Die Bestimmung unbekannter Natriummengen geschieht nun einfach dadurch, daß man die in analoger Weise hergestellten, auf 10 bzw. 5 ccm aufgefüllten Niederschläge von Natriumpyroantimonat in genau den gleichen Kolorimeterröhrchen in die Skala einzuordnen sucht; bei Mengen über 2,0 mg Natrium kann allerdings nur ein aliquoter Teil der Lösungen zur Bestimmung kommen und die Gesamtmenge ist durch entsprechende Multiplikation zu errechnen.

Es ist nötig, die Skala bzw. nur die Ausschnitte davon, die gerade zur Verwendung kommen sollen, alltäglich oder mindestens jeden zweiten Tag neu anzufertigen; denn die Niederschläge senken sich immer mehr zu Boden und die Trübung kann schließlich auch durch

[1]) In Wirklichkeit sind die Trübungsunterschiede, in der Nähe gesehen, besonders für die höheren Werte der Skala, noch viel deutlicher als sie in der Photographie zum Ausdruck kommen, deren Anfertigung noch mit der Schwierigkeit zu kämpfen hatte, daß man nicht zu gleicher Zeit alle 15 Röhrchen so gleichmäßig umschütteln kann, wie man es für die einzelnen Bestimmungen jeweils machen muß. Immerhin sind die Unterschiede zwischen den ersten und letzten Röhrchen der Skala noch außerordentlich hervortretend.

Umschütteln nur unvollkommen wieder hergestellt werden, in der Hauptsache wohl deshalb, weil der Niederschlag dann zu grobkörnig geworden ist. Des weiteren reagieren die stark alkalischen Flüssigkeiten mit der Glaswand der Röhrchen. Es ist diese geringe Haltbarkeit der Skala aber kein bedeutender Nachteil der Methode, da die Erneuerung nur einen kleinen Aufwand an Zeit und Mühe erheischt.

Bei der Bestimmung kleinster Mengen Natrium — unter 0,5 mg — bediente ich mich mit großem Vorteil eines einfachen Apparates, den mir Herr Geheimrat *Wessely* in entgegenkommendster Weise zur Verfügung stellte und der nach seinen Angaben gebaut ist. Es ist dies ein ziemlich großer, außen schwarz, innen weiß gestrichener Blechkasten, der durch eine mediane Scheidewand in zwei gleich große Hälften geteilt ist, deren jede einen röhrenförmigen Aufsatz trägt. Gerade unter dessen unterer Öffnung befindet sich in der Mitte einer jeden Hälfte eine kleine elektrische Metallfadenlampe, deren Lichtstärke man durch einen Regulierwiderstand beliebig, aber für beide Birnen stets in gleicher Weise verändern kann[1]). An der Innenseite des Deckels befindet sich eine Vorrichtung zum Einschieben von Gläsern. Den Boden des Kastens bildet eine große Mattscheibe (Abb. 2).

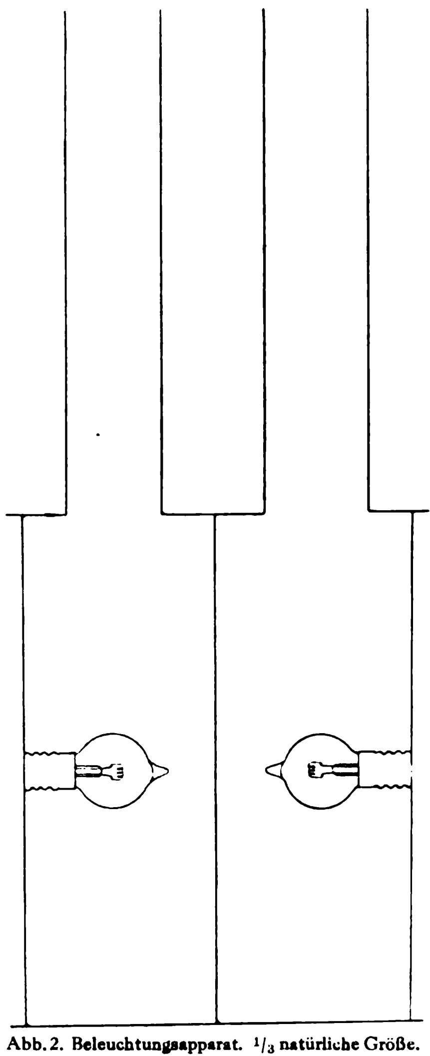


Abb. 2. Beleuchtungsapparat. $^1/_3$ natürliche Größe.

Ich verwandte dieses Instrument als eine Art Diaphanometer, indem ich von oben durch die Röhrchen mit den trüben Natriumpyroantimonataufschwemmungen, die in den Blechröhren gerade über

[1]) Die beiden Lampen sind daher stets *parallel* zu schalten.

die Glühbirnen gehalten werden müssen, hineinsah, und zwar durch beide möglichst gleichzeitig. Die Lichtstärke der Lampen, die natürlich stets auf beiden Seiten genau gleich groß sein muß, wird dabei durch die trübe Flüssigkeitsschicht mehr oder weniger abgeschwächt und schließlich sogar ganz aufgehoben, so daß man das Bild der beiden leuchtenden Spiralen bei den verschiedenen Trübungsintensitäten verschieden hell und deutlich sieht und nur auszuprobieren braucht, welches Röhrchen der Vergleichsskala die Lichtstärke in demselben Grade abschwächt, wie das mit der unbekannten Natriummenge bzw. zwischen welchen beiden Stufen der Skala letzteres einzureihen ist. In zweifelhaften Fällen reguliert man die Lichtstärke so, daß das eine, nämlich das trübere der beiden Röhrchen, die Lichtquelle vollkommen unsichtbar macht. Dieses einfache Verfahren ist bei solch kleinen Mengen noch wesentlich zuverlässiger als der Vergleich vor dem schwarzen Schirm. Man darf natürlich auch hierbei nicht vergessen, die beiden Röhrchen recht oft und gründlich durchzuschütteln. Etwaige Selbsttäuschungen vermeidet man durch mehrfaches Wechseln der beiden Röhrchen über den zwei Lampen oder Kontrolle durch einen anderen Beobachter, die auch für die Abschätzung vor dem Schirm recht erwünscht ist.

Die Brauchbarkeit des Verfahrens sollte zuerst an Natriumchloridlösungen mit genau bekanntem Natriumgehalt für Mengen unter 2,0 mg Natrium erprobt werden. Über einen Teil dieser Analysen gibt Tabelle I Auskunft.

Tabelle I.

Natriumbestimmung in Natriumchloridlösungen.

Nr.	Flüssigkeitsmenge ccm	Zugesetzte Menge Natrium mg Na	Erhaltene Menge Natrium mg Na	Fehler Proz.
1	0,1	0,05	0,05	± 0
2	0,2	0,1	0,1	± 0
3	0,4	0,2	0,175	—12,5
4	0,5	0,25	0,25	± 0
5	0,6	0,3	0,35	+16,6
6	0,8	0,4	0,4	± 0
7	1,0	0,5	0,5	± 0
8	0,65	0,65	0,6	— 8,3
9	0,7	0,7	0,7	± 0
10	0,8	0,8	0,85	+ 6,2
11	1,0	1,0	1,0	± 0
12	1,2	1,2	1,2	± 0
13	1,4	1,4	1,3	— 7,1
14	1,6	1,6	1,7	+ 6,2
15	1,0	2,0	2,0	± 0
			Durchschnittlicher Fehler:	+ 0,07

Wenn auch der durchschnittliche Fehler (0,07 Proz.) als verschwindend klein zu bezeichnen ist, so sind darum doch die Einzelfehler von nicht unbedeutender, aber angesichts der kleinen in Frage stehenden Mengen und der auf nur wenige Röhrchen beschränkten Auswahl verständlicher Größe. Sie liegen jedoch in der Hauptsache noch innerhalb der für eine Mikromethode zu erlaubenden Fehlergrenze, und man könnte ja auch diese Fehler sogar noch etwas vermindern durch Ausführen vielfacher Kontrollbestimmungen, aus denen dann das Mittel zu ziehen wäre.

Das Verfahren kann in der vorliegenden Form Anwendung finden auf die Natriumbestimmung im Blutserum, wofern man die Ausgangsmenge unter 0,5 ccm wählt; man nimmt dabei für 0,1 ccm Serum etwa 0,5 ccm Kaliumpyroantimonatreagens und 0,3 ccm 95proz. Alkohol und verfährt im übrigen sinngemäß wie oben bei den Natriumchloridlösungen. Ich habe eine Reihe von Blutserumproben, die von Patienten der medizinischen Poliklinik Würzburg stammten, in dieser Weise auf ihren Natriumgehalt untersucht, wobei ich zur Kontrolle in jedem Serum Mengen von je 0,1, 0,2 und 0,3 ccm analysierte. Eine Auswahl aus diesen Versuchen gibt Tabelle II. (Die Natriummengen sind im Interesse einer besseren Übersicht jeweils auf 1 ccm Serum umgerechnet.)

Tabelle II.
Natriumbestimmung im menschlichen Blutserum.

Nr.	Material	In 1 ccm Serum gefundene Menge Natrium bei einer Ausgangsmenge Serum von			Größte Differenz der drei Werte	Durchschnittswerte
		0,1 ccm mg Na	0,2 ccm mg Na	0,3 ccm mg Na	Proz.	mg Na
1	Serum I	4,5	4,25	4,33	5,5	4,36
2	" II	5,0	4,75	4,66	6,8	4,8
3	" III	4,25	4,25	4,0	6,2	4,17
4	" IV	4,0	4,25	4,0	6,2	4,08
5	" V	4,25	4,5	4,33	5,5	4,36
6	" VI	4,75	4,5	4,66	5,3	4,63
7	" VII	4,25	4,25	4,33	1,8	4,28
8	" VIII	4,5	4,0	4,33	11,1	4,28
9	" IX	4,75	4,5	4,33	8,9	4,53
10	" X	4,5	4,25	4,0	11,1	4,25
				Durchschnittliche Differenz:	6,84	

Die einzelnen Bestimmungen dieser Reihe stimmen untereinander ganz gut überein, die Differenzen sind mit wenigen Ausnahmen keine großen. Auch die gefundenen Werte für den Natriumgehalt des menschlichen Blutserums decken sich im Durchschnitt gut mit den bisher bestimmten. (Vgl. dazu die Lehrbücher der Physiologie und Biochemie.)

Ich legte mir nun noch die Frage vor, ob der auf diese Art bestimmte Natriumgehalt des Serums auch mit dem gewichtsanalytisch ermittelten übereinstimme. Deshalb untersuchte ich genau dieselben Sera nochmals

auf die darin enthaltene Menge Natrium mit Hilfe der *Kramer-Tisdall*schen Methode, die ich in folgendem kurz beschreiben will.

2 ccm Serum werden im (sorgfältig mit Seesand gescheuerten) Platintiegel mit 10 ccm Kaliumpyroantimonatreagens (s. oben) versetzt, und langsam, tropfenweise, unter Umrühren mit einem Glasstabe mit Gummispitze werden 3 ccm 95proz. Alkohols zugefügt. Nach 45 Minuten ist die Fällung vollständig. Der Niederschlag wird durch einen Goochtiegel, der besonders gut gepolstert sein muß[1]), abfiltriert und mit 8 bis 12 ccm 30proz. Alkohols gewaschen. Man trocknet eine Stunde lang bei 110° (langsam bis zu dieser Temperatur ansteigen lassen!) und wägt dann nach ½stündigem Stehen im Exsikkator bis zur Gewichtskonstanz. *Das Gewicht des Niederschlages, durch 11,08 dividiert, gibt an, wieviel Milligramm Natrium in der Serumprobe enthalten waren.*

Die Methode gibt nach den Angaben von *Kramer* und *Tisdall* etwa 2,5 Proz. Fehler[2]).

Über das Ergebnis des Vergleiches beider Methoden unterrichtet Tabelle III.

Tabelle III.

Vergleich der Methode mit der Gewichtsanalyse nach *Kramer-Tisdall.*

Nr.	Material	Menge ccm	Natriummenge in 1 ccm Serum nach *Kramer-Tisdall* mg Na	Durchschnittswert der obigen Bestimmung mg Na	Differenz [3]) beider Bestimmungen Proz.
1	Serum I	2	4,23	4,36	+ 2,9
2	„ II	2	4,41	4,80	+ 8,0
3	„ III	2	3,96	4,17	+ 5,0
4	„ IV	2	4,11	4,08	— 0,7
5	„ V	2	4,14	4,36	+ 5,0
6	„ VI	2	4,39	4,63	+ 5,1
7	„ VII	2	3,87	4,28	+ 9,5
8	„ VIII	2	3,96	4,28	+ 7,4
9	„ IX	2	4,32	4,53	+ 4,6
10	„ X	2	4,30	4,25	— 1,2
			Durchschnittliche Differenz:		+ 4,56

[1]) Der *Goochtiegel* wird folgendermaßen präpariert: Ein Filter auf den Boden gegeben, dann eine dünne Asbestschicht, noch ein Filter und eine zweite Asbestschicht; da der Niederschlag auch hier noch durchläuft, läßt man vor Gebrauch 300 bis 400 mg Natriumpyroantimonat (hergestellt aus 10 ccm Reagens, 3 ccm 95proz. Alkohol und 2 ccm Natriumchloridlösung, die 3 bis 5 mg Natrium in 1 ccm enthält) durchfiltrieren. Man wäscht mit 30proz. Alkohol nach und kann den so präparierten Tiegel etwa 25mal hintereinander benutzen. Man saugt nur vorsichtig, so daß etwa 10 bis 15 Tropfen in einer Minute durchlaufen.

[2]) Diese Beschreibung der Methode erfolgte fast wörtlich genau nach dem Referat in *Rona*, Ber. über d. ges. Physiol. u. exper. Pharm. **7**, 552, 1921, H. 9.

[3]) Bei Berechnung dieser Differenz wurde als Ausgangswert stets der Durchschnittswert der obigen Bestimmung zugrunde gelegt. Daraus erklären sich die wechselnden, teils positiven, teils negativen Vorzeichen.

Daß die *Kramer-Tisdall*sche Methode fast in allen Fällen deutlich niedrigere Werte lieferte als das andere Verfahren, darf nicht wundernehmen, wenn man bedenkt, daß fast notwendigerweise mit jeder Gewichtsanalyse mehr oder minder große Verluste verbunden sind, wie ja auch der hier zu buchende von den Autoren selbst auf etwa 2,5 Proz. angegeben wird, und daß andererseits die Bestimmung mit der Trübungsskala des öfteren auch zu hohe Werte geben kann (s. oben). Die Differenzen sind indes im allgemeinen nicht sehr bedeutend, so daß man wohl sagen kann, die neue Methode arbeite mit ungefähr der gleichen Genauigkeit wie die Gewichtsanalyse.

Wie indes schon aus der obigen kurzen Beschreibung des *Kramer-Tisdall*schen Verfahrens[1]) hervorgeht, ist dieses wesentlich umständlicher, technisch schwieriger und ungleich viel zeitraubender, besonders wenn man mehrere Bestimmungen zu machen hat; jeder, der schon größere Serienanalysen gravimetrisch auszuführen hatte, wird sicherlich der Gewichtsanalyse eine einfache Titration, kolorimetrische oder nephelometrische Bestimmung vorziehen, wenn sie ungefähr dasselbe leistet. Zudem erfordert die Originalvorschrift nach *Kramer-Tisdall* für die Fällung einen Platintiegel, der allerdings ohne nennenswerte Nachteile durch eine Porzellanschale ersetzt werden kann. Auch bei genauester Beobachtung der Vorschriften und bei sorgfältigster Polsterung des Goochtiegels besteht dabei noch die Gefahr, daß ein Teil des sehr feinen Niederschlages durchs Filter läuft und die ganze Arbeit zunichte macht. Alle diese Unannehmlichkeiten vermeidet die Natriumbestimmung mit Hilfe der Trübungsskala. Was aber ihr Hauptvorteil gegenüber der gravimetrischen Bestimmung ist, wurde eingangs schon erwähnt: sie kann zur Not schon mit Ausgangsmengen von nur 0,1 ccm Serum arbeiten, während die Gewichtsanalyse eine solche von 2 ccm verlangt und eine Verminderung dieses Quantums natürlich nur auf Kosten der Genauigkeit zulassen würde. Der Nachteil meiner Methode dagegen besteht, wie schon erwähnt, nur in der geringen Haltbarkeit der Vergleichstrübungsskala, was indessen bei der einfachen Herstellung der Flüssigkeiten kaum ins Gewicht fällt. Das neue Verfahren würde also aus einer ganzen Reihe von Gründen der Wägung des Natriumpyroantimonatniederschlages vorzuziehen sein.

Zusammenfassung.

Man kann Natriummengen zwischen 0,05 und 2,0 mg in einfacher Weise dadurch bestimmen, daß man das Natrium als saures Pyroantimonat

[1]) Die gewichtsanalytische Bestimmung des Natriums nach *Richter-Quittner* ist noch wesentlich komplizierter als die *Kramer-Tisdall*sche und benötigt größere Blut- und Serummengen (5 ccm) sowie einen Ultrafiltrationsapparat.

fällt und in Kolorimeterröhrchen die gut umgeschüttelte und auf immer das gleiche Volumen gebrachte Aufschwemmung des Niederschlages in eine zu diesem Zwecke hergestellte Trübungsskala einzuordnen sucht. Für ganz kleine Mengen (unter 0,5 mg Natrium) empfiehlt sich ein einfacher Beleuchtungsapparat nach Wessely. Das Verfahren ermöglicht es, mit noch leidlicher Genauigkeit schon in 0,1 ccm Blutserum eine Natriumbestimmung vorzunehmen. Die Übereinstimmung der Ergebnisse mit denen der gewichtsanalytischen Methode nach Kramer-Tisdall ist gut. Jedoch besitzt das neue Verfahren vor dieser gravimetrischen Natriumbestimmung den Vorzug einer wesentlich leichteren technischen Durchführbarkeit und beansprucht einen viel geringeren Aufwand an Zeit und Mühe als diese, welche überdies nur mit unverhältnismäßig größeren Ausgangsmengen arbeiten kann.

Vielleicht ist es möglich, mit Hilfe kleinerer Glasgefäße und geeigneter optischer Hilfsmittel das Verfahren noch weiter zu verfeinern und auch für die allerkleinsten Natriummengen — unter 0,05 mg — brauchbar zu machen.

Herrn Geheimrat *Wessely* sowie Herrn Prof. *Weinland* bin ich für vielfache Unterstützung bei Ausführung der Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Untersuchungen an elektrolytfreien, wasserlöslichen Proteinkörpern.

I. Mitteilung: Die Elektrodialyse.

Von

Wo. Pauli.

(Aus dem Universitätslaboratorium für physikalisch-chemische Biologie in Wien.)

(Eingegangen am 17. September 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Wir verstehen unter *Elektrodialyse* den elektrischen Transport von membrandurchgängigen Ionen durch kolloidundurchlässige Membranen, z. B. Pergamentpapier, Kollodium usw., zum Zwecke der Elektrolytbefreiung der von den Membranen umschlossenen Kolloide, und unterscheiden diesen Vorgang von der *Elektrophorese*, der Überführung suspendierter oder kolloider Teilchen im elektrischen Felde und von der *Elektrosmose*, dem mit dem Durchgang des Stromes durch (elektrisch geladene) feste Diaphragmen verbundenen Wassertransport.

Die elektrische Reinigung fester Gelatine (ohne Membran) wurde vor Jahren mittels Wechselstroms von *Steele* und *Denison* gelegentlich von Bestimmungen der Überführungszahlen versucht. Zum Zwecke der Untersuchung eines Kolloids wurde sie zum ersten Male von *M. Ch. Dhéré*[1]) an Gelatine verwendet. Die Gelatine wurde in einem U-Rohr erstarren gelassen, darüber Wasser geschichtet, durch welches ein schwacher Gleichstrom geschickt wurde. Das Verfahren, das gleichfalls ohne Verwendung von Membranen geübt wurde, wird als „Dialyse electrique" bezeichnet. Im technischen Betriebe wird heute die elektrische Dialyse unter dem wissenschaftlich anderweitig festgelegten Sammelnamen Elektrosmose von der Elektrosmosegesellschaft verwertet, deren genialer Begründer,

[1]) *M. Ch. Dhéré,* Recherches sur les proprietés physico-chimique de la Gelatine démineralisée, Journ de Physiol. et Pathol. générale **13**, 157, 1911.

Graf *Schwerin*, sinnreiche elektrische Verfahren, insbesondere zur Entwässerung und zur Schlemmung von Suspensionen ausgearbeitet hat.

Leider ist die wissenschaftliche Ausbeute der von technischer Seite[1]) gemachten Beobachtungen trotz unleugbarer praktischer Erfolge mehr als gering, und die dabei gebrauchten und gewonnenen Vorstellungen z. B. von den Eigenschaften der Serumeiweißkörper[2]) müssen bei aller Zurückhaltung geradezu als grotesk bezeichnet werden. Im folgenden seien nur einige Proben gegeben, die sich leicht vermehren ließen:

Hierher gehört zunächst die Handhabung der Begriffe hydrophob und hydrophil. So heißt es: „Als hydrophobes Kolloid muß das Euglobulin bezeichnet werden, weil es mit reinem, d. h. elektrolytfreiem Wasser als Dispersionsmittel keine kolloidale Lösung zu bilden vermag." Nun bilden bekanntlich alle hydrophoben Kolloide, wie z. B. die Edelmetallsole, kolloidale Lösungen in reinem Wasser, und die Verwechslung liegt darin, daß gewisse Eiweißkörper nur als Salze lösungsstabil sind und im isoelektrischen Punkte ausfallen, wie Casein, Fibrin, Globulin usw., andere jedoch in genuinem Zustande unabhängig von der Ladung lösungsstabil bleiben, wie Albumin, Glutin, Hämoglobin. Ferner wird übersehen, daß Behauptungen wie „Pflanzliche Membranen sind durchlässig ausschließlich für Kationen, Membranen tierischer Herkunft dagegen ausschließlich für das Anion" schon mit den primitivsten Erfahrungen bei der einfachen Dialyse in Widerspruch stehen, die sonst weder *Graham* noch seinen Nachfolgern zur Kolloidreinigung hätte dienen können. Diese Anschauungen sind dadurch entstanden, daß die Technik, um Zeit zu sparen, mit Stromstärken arbeitet, die zu Ionenstauungen führen. Ein großer Teil der sonderbaren[2]) Angaben über wechselseitige Eiweißverwandlungen hängt teils mit auf diese Weise bewirkten Denaturierungen, teils mit ungenügenden Trennungen der verschiedenen Eiweißkörper zusammen. Ohne jeden Beweis steht die oft wiederkehrende Behauptung da, daß die (infektionsfreie) Dialyse Veränderungen an Eiweißkörpern bewirkt, die bei der Elektrodialyse vermieden werden. Im Gegenteil, die mit stärkeren Strömen, also im stärker elektrolythaltenden Medium arbeitende Elektrodialyse veranlaßt oft unberechenbare Veränderungen, die weder bei protrahierter sorgfältiger Dialyse, noch bei unserer Art der Elektrodialyse vorkommen.

Wir haben seit mehr als 11 Jahren am Institut die Elektrodialyse bei einer Reihe von wissenschaftlichen Untersuchungen[3]), insbesondere

---

[1]) *W. G. Ruppel* und Mitarbeiter, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionsk. **97**, 188, 1922.

[2]) Siehe die folgende Mitteilung.

[3]) Vgl. die vorläufige Mitteilung, Anzeiger d. Akad. d. Wissensch. Wien, 25. Januar 1923 und Kolloid-Zeitschr. **31**, 252, 1922.

zur Reinigung von wasserunlöslichen Eiweißkörpern, Casein (*Pauli* und *Matula*), Globulin (*M. Adolf*), ferner von Kohlehydraten (*M. Samec*), zur Reinigung von kolloiden Farbstoffen und gewissen anorganischen Kolloiden sowie zur Beseitigung elektrolytischer Reaktionsprodukte bei Kolloidreaktionen (*S. Matsumura*) und schließlich zur Konzentrierung von Kolloiden verwendet[1]). In der folgenden Reihe von Mitteilungen sollen die Untersuchungen an auf diesem Wege hergestellten, hochgereinigten, wasserlöslichen Eiweißkörpern, vor allem der Albumine, des Hämoglobins und Glutins beschrieben werden, die zu mannigfachen ungeahnten und aufklärenden Feststellungen geführt haben.

Unser Verfahren beruht auf folgenden Prinzipien:

1. Verwendung von in der Regel durch Dialyse vorgereinigtem Material, insbesondere dort, wo dasselbe gegen elektrolytische Produkte empfindlich ist.

2. Gebrauch von Strömen, die im allgemeinen eine Dichte von 0,8 bis 0,3 MA pro Quadratzentimeter Membranfläche nicht überschreiten.

3. Unter diesen Verhältnissen ist es ohne weiteres möglich, zwei Pergamentpapier- oder Kollodiummembranen zur Abgrenzung des Kolloids zu gebrauchen.

Die Elektrodialyse führt auf diesem Wege meist in 48 Stunden zum Ziel und kann schließlich bei 440 Volt direkter Spannung ausgeführt werden. In dieser Hinsicht gehen wir weit über die von anderer

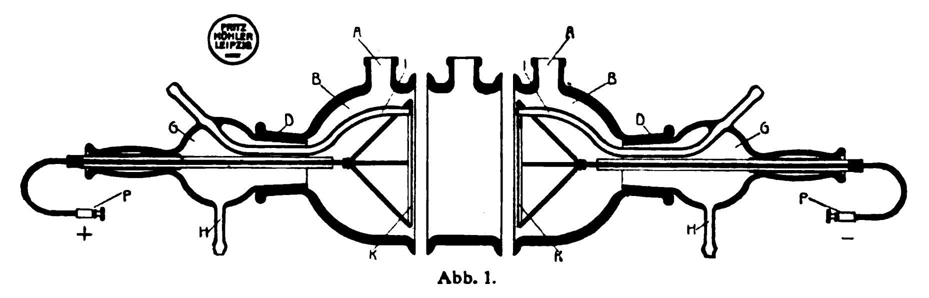


Abb. 1.

Seite verwendeten Spannungen hinaus. Dieser letzte Reinigungsprozeß ist für uns das Entscheidende. Wir verfolgen keinerlei technische Zwecke, wie es insbesondere die weitere Abkürzung der ohnehin durch unseren einfachen Faltendialysator[2]) so energisch gestalteten Dialyse

[1]) Nach unserem Verfahren haben *R. Willstätter* die weitgehende Reinigung von Fermenten, *L. Kofler* die von Saponinen mit großem Erfolge ausgeführt. Die Möglichkeiten seiner Verwertung sind noch sehr mannigfaltige, zumal die Außenzellen zum Abfangen verschiedener Reaktionsprodukte verwendet werden können.

[2]) *A. Erlach* und *Wo. Pauli*, Kolloid-Zeitschr. 34, 213, 1924.

ist, sondern lediglich das Ziel, zu Produkten von einer bisher unbekannten Reinheit zu gelangen. Es ist niemals bestritten worden, daß starke Ströme, die in 10 bis 50 Minuten zum Ziele führen wollen, eine saure Reaktion in der Mittelzelle bewirken. Wir haben nur die Bedingung aufgestellt, daß Reaktionsänderungen in der Mittelzelle vermieden werden müssen und Verfahren, bei denen sie eintreten, für *wissenschaftliche* Zwecke zu verwerfen sind.

Die Abb. 1 und 2 bilden unsere Apparatformen ab, wie sie in verschiedenen Größen von *F. Köhler* in Leipzig in den Handel gebracht werden. Die Pergamentpapiere oder Kollodiummembranen werden entsprechend geschnitten und am Rande gut mit Vaselin befettet. Sie halten dann infolge des guten Schliffes vollständig dicht beim Zusammensetzen und Anziehen des Apparates. Die Montierung erfolgt leer in vertikaler Stellung, darauf wird der Apparat horizontal umgelegt. Es ist besser, die zwei Außenzellen getrennt zu durchspülen, als für die Spülung hintereinander zu schalten. Als Anoden werden Platindrahtnetzelektroden, als Kathoden auch Silber- oder Messingnetzelektroden verwendet. Die größeren Apparate, die nur zur Vorreinigung dienen, werden mit Grafitelektroden justiert. Das übrige geben die Abb. 1 und 2. Bei einiger Erfahrung lernt man es bald, mittels einer eingeschalteten, sehr schwach glühenden Lampe und Widerständen die Stromstärke auch ohne Amperemeter am Anfang abzustufen, bis man die volle Spannung anlegen kann.

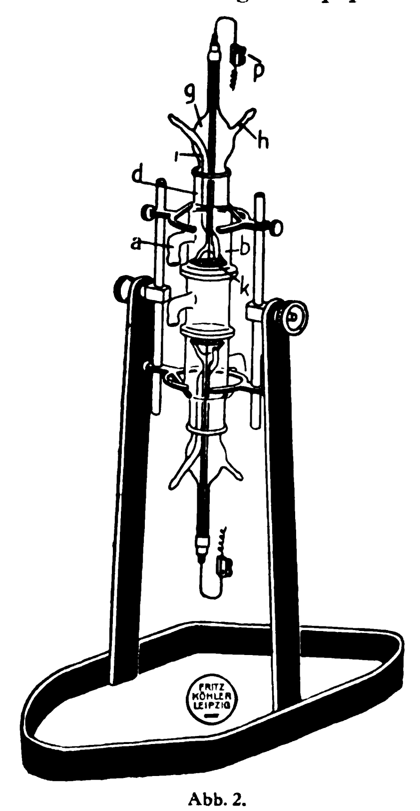


Abb. 2.

Während der Niederschrift dieser einleitenden Mitteilung erschien eine Abhandlung von *H. Freundlich* und *L. F. Löb*[1]), in welcher diese die auch von *Reitstötter*, *Ruppel* und Mitarbeitern angegebene Tatsache feststellen, daß bei starken Strömen zwischen Pergamentpapierwänden saure Reaktion während der Elektrodialyse auftritt. Eingehendere

[1]) Diese Zeitschr. **150**, 522, 1924.

Untersuchungen an Eiweißkörpern nach unserem Verfahren sind nicht erfolgt. Die Autoren fassen ihr Urteil folgendermaßen zusammen:

„Die von *Pauli* benutzte Membrankombination (zwei Pergamentpapiermembranen) ist für die Elektrodialyse von Serum ungeeignet."

Wir legen nunmehr in den folgenden Mitteilungen unsere mit einer Reihe von Mitarbeitern gewonnenen Ergebnisse vor und hoffen damit jeder weiteren Entgegnung enthoben zu sein. „An ihren Früchten sollt ihr sie erkennen."

Untersuchungen an elektrolytfreien, wasserlöslichen Proteinkörpern.

II. Mitteilung:

Beziehungen zu Kohlensäure 1.

Von

M. Adolf und Wo. Pauli.

(Aus dem Universitätslaboratorium für physikalisch-chemische Biologie in Wien.)

(Eingegangen am 17. September 1924.)

I.

In den folgenden Versuchen werden die Eigenschaften reinster wasserlöslicher Proteine — zunächst ohne jeden weiteren Zusatz — sowie ihr Verhalten an der Luft beschrieben. Untersuchungen dieser Art liegen schon deshalb nicht vor, weil die zur erforderlichen Reinigung unerläßliche Elektrodialyse bisher nicht in der dazu nötigen Form gehandhabt wurde. Die Versuche selbst liegen zum Teil schon 2 Jahre und darüber zurück und gelangen zur Veröffentlichung, nachdem die Erfahrungen in anderer Richtung am Institut erweitert worden sind.

Unter den hier in Betracht kommenden Eiweißstoffen stehen die Albumine, die z. B. durch eine wasserlösliche Fraktion des Blutserums oder des Eiklars repräsentiert werden, im Vordergrunde des Interesses. Das größte Augenmerk mußte hier auf die Gewinnung eines reinen, einheitlichen und stabilen Produktes gerichtet werden. Damit tritt die Frage der Trennung des Albumins vom Globulin in den Kreis der Untersuchung, eine Frage, die durch die herrschenden Schwankungen in der Begriffsbestimmung des Globulins und durch Beobachtungen über anscheinende genetische Beziehungen dieser zwei Eiweißkörper beträchtliche Schwierigkeiten birgt.

Man versteht unter Globulinen im allgemeinen wasserunlösliche, in Neutralsalz lösliche Eiweißkörper, die durch gewisse Konzentrationen von Neutralsalzen fällbar sind. Die Beobachtung von *E. Freund* und *Markus*, daß nach längerer Dialyse im Blutserum ein Eiweißkörper nachweisbar bleibt, der durch Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbar ist, führte zur Annahme eines „wasserlöslichen Globulins“. Bei der

Unvollkommenheit der Salzentfernung durch einfache Dialyse blieb jedoch der Einwand dagegen übrig, daß es durch die vorhandenen Salzreste in Lösung gehalten wird. Das so gewonnene „wasserlösliche Globulin" läßt sich in der Tat, wie wir sehen werden, durch Verdünnung und Elektrodialyse restlos aus dem Serum entfernen. Von der *Hofmeister*schen Schule wurden die fällbaren Globuline des Serums in das bei Drittelsättigung mit Ammonsulfat flockende Euglobulin und das bei weiterer Halbsättigung ausfallende Pseudoglobulin getrennt. Damit erscheint ein besonderes Einteilungsprinzip eingeführt und die Wasserlöslichkeit als solches aufgegeben. Die letztere wird jedoch wiederum als unterscheidendes Merkmal in neueren Arbeiten aufgenommen, welche das Verfahren der Elektrosmosegesellschaft verwenden und die bei der Elektrodialyse ausgefallene Eiweißfraktion als Euglobulin, die in Lösung bleibende mit Halbsättigung durch Ammonsulfat fällbare als Pseudoglobulin oder Paraglobulin bezeichnen. Damit wurde infolge der, wie sich zeigen wird, unvollständigen und nicht genügend kontrollierten Beobachtungen eine neue Verwirrung in dieser Frage herbeigeführt.

Eine weitere Komplikation erfährt dieselbe von einer anderen Seite her. Verschiedene Beobachtungen zeigen, daß in mittels Halbsättigung (Ammonsulfat) von Globulinanteilen befreitem Serumeiweiß nach der Entfernung des Salzes durch Dialyse mit der Zeit ein wasserunlösliches und salzlösliches Protein auftreten kann. Beobachtungen solcher Art haben *H. Chick*[1]), welche sich in den letzten Jahren mit diesen Fragen sehr eingehend beschäftigt hat, zu der Anschauung geführt, daß Pseudoglobulin einer zeitlichen Umwandlung zu Euglobulin fähig sei, die wahrscheinlich die Quelle des im Serum gegenwärtigen Euglobulins bildet.

Viel weiter gehen *Ruppel* und Mitarbeiter[2]) in ihren Annahmen, welche — allerdings ohne Wiedergabe prüfbarer Versuche — ins einzelne ausgeführt werden und sich als Ergebnis langjähriger, wohl mehr technischer, elektrosmotischer Untersuchungen darstellen. Danach soll eine Umwandlung von Albumin in Euglobulin, und zwar stets über Pseudoglobulin erfolgen. Diese Umwandlung soll jedoch in reinen Pseudoglobulinlösungen ausbleiben. Der Mechanismus dieser Umwandlung wird folgendermaßen geschildert, „daß aus dem relativ labilen Molekül des Albumins durch hydrolytischen Abbau Aminosäure abgespalten wird, wodurch jenes Zwischenprodukt entsteht, welches wir Pseudoglobulin nennen. Durch den Einfluß der freien Aminosäure aber wird das Pseudoglobulin in das lyophobe Euglobulin übergeführt.

[1]) The Biochemical Journal 8, 404, 1914.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionsk. 97, 188, 1922.

Ist kein Albumin zugegen, so fehlt die Quelle für die Bildung freier Aminosäure und somit die Möglichkeit für die Umwandlung des Pseudoglobulins. Aus diesem Grunde sind reine Pseudoglobulinlösungen unverändert haltbar.“ Danach wäre also eine reine Albuminlösung überhaupt nicht als solche beständig.

Zu der uns hier zunächst interessierenden Frage nach der Gewinnung des Serumalbumins möchten wir folgendes vorausschicken:

„Es gelingt durch geeignete Form der Elektrodialyse, das gesamte Globulin des Serums als wasserunlösliche Fraktion abzuscheiden und als Rest ein auch nach langen Zeiträumen (1½ Jahren und darüber) stabiles, bei Halbsättigung mit Ammonsulfat und beliebiger Verdünnung ganz klar bleibendes Albumin zu gewinnen.“

II. Versuche zur Darstellung der Eiweißkörper.

1. Seralbumin[1]). Frisch vom Schlachthaus geliefertes Pferdeserum wird zunächst mit Toluol versetzt und nach gemessener Leitfähigkeit durch etwa 14 Tage im Faltendialysator bei zweimal täglichem Wasserwechsel unverdünnt gegen destilliertes Wasser dialysiert, wobei sich das Volumen des Serums wenig ändert. Am Ende dieser Vordialyse wurde das Serum, welches Globulin abgeschieden hatte, in den großen Apparat (1,3 Liter in der Mittelzelle, Silberkathode, Kohlenanode) gebracht. Die nach kurzer Zeit auftretende Schichtung — ein Phänomen, das seit langem anderweitig am Institut untersucht wird — führte zur Bildung einer oberen klaren, fast eiweißfreien Partie, welche abgehebert und durch neues vordialysiertes Serum ersetzt wurde. Auf diese Weise konnte dieses leicht auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingeengt werden. Die Menge des abgeschiedenen Globulins bleibt bei diesem Verfahren auffallend gering. Jede Portion blieb 2 Tage bei 220 Volt im Apparat und die gewonnene Flüssigkeit (vgl. Tabelle I) kam darauf partienweise in den mittleren Elektrodialysierapparat (Platindrahtnetzelektroden, Mittelzelle 300 ccm) bei einer anfänglichen Stromdichte von 0,8 MA/qcm, die nach erreichter Konstanz der Leitfähigkeit bis auf etwa 0,3 MA im Quadratzentimeter absank. Schließlich wurden noch Proben im gleichen Apparat bei 440 Volt Elektrodenspannung durchströmt und Trockengehalt sowie Leitfähigkeit bestimmt.

Trotz der erreichten außerordentlich geringen Leitfähigkeit (korrigiert $3{,}2 \cdot 10^{-6}$) war in allen Reinigungsstadien die Globulinabscheidung eine sehr mäßige. In der Tat erwies sich das Endprodukt der so gehandhabten Elektrodialyse als sehr globulinhaltig, indem es sowohl bei Drittel- als auch bei Halbsättigung mit Ammonsulfat einen

[1]) Wir werden in den Mitteilungen des Instituts diese analog dem Worte Ovalbumin gebildete Abkürzung für Serumalbumin gebrauchen.

Tabelle I.

Die abzuziehende Wasserkorrektur sinkt in der Tabelle von 4 auf 2.10^{-6} r. Ohm (25° C).

Substanz	$K_{unkorrigiert}$	Stromdichte	Trockengehalt Proz.
Pferdeserum, undialysiert . . .	$1,275.10^{-2}$	—	—
Nach 2 Wochen Dialyse	$1,212.10^{-4}$	—	—
ED 220 V (großer Apparat) . .	$3,5.10^{-5}$	—	—
ED 220 V (mittlerer Apparat) .	$7,59.10^{-6}$	0,8 MA/qcm 0,3 MA/qcm	—
ED 440 V (mittlerer Apparat) .	$5,2.10^{-6}$	—	7,36

reichlichen Niederschlag, im Sinne der älteren Nomenklatur also von Euglobulin und Pseudoglobulin, aufwies.

Bezieht man, was sicher zu viel ergibt, die ganze gemessene Leitfähigkeit auf etwa anwesendes Salz, so würde dasselbe (als KCl) nur eine Konzentration von etwas über 2.10^{-5} n haben können, also einen im Verhältnis zu dem anwesenden Globulin ganz verschwindenden Wert. Dieses wird somit durch einen anderen Faktor — bei der gewählten Anordnung am nächsten liegend das Albumin — in Lösung gehalten.

Unser Produkt läßt sich nun auf verschiedene Weise restlos vom Globulin befreien, und zwar entweder durch *Verdünnung* mit Wasser und Elektrodialyse oder durch Elektrodialyse unter wiederholten *Salzzusätzen*.

Über einen solchen *Verdünnungs*versuch, bei dem die Proben jedesmal bis zur Leitfähigkeitskonstanz bei 440 Volt elektrodialysiert wurden (48 Stunden), belehrt die Tabelle II, deren Ausgangsstoff das Endprodukt in Tabelle I bildet. Als Wasserkorrektur wäre 2.10^{-6} abzuziehen.

Tabelle II.

Eiweißgehalt Proz.	$K.10^6$	Verhalten bei Verdünnung 1 : 5	Drittelsättigung mit Ammonsulfat	Halbsättigung mit Ammonsulfat
7,37 *)	5,2	Trübung und Fällung	Fällung	Fällung
4,0	9,6	" " "	"	"
Etwa 2 **) . .	6,4	θ	θ	zarte Trübung
" 1	—	θ	θ	" "
" 0,5 . . .	4,0	θ	θ	θ

*) Auf 0,5 Proz. verdünnt, Trübung bei Halbsättigung mit Ammonsulfat.
**) Auf 0,5 Proz. verdünnt, Opalescenz bei Halbsättigung mit Ammonsulfat.

Man gelangt also offenbar durch Verdünnungshydrolyse unter Mitwirkung des elektrischen Stromes zu einer globulinfreien, wenn auch wenig konzentrierten Albuminlösung, die jedoch (s. weiter unten) durch Elektrodialyse mit Salzzusatz eingeengt werden kann.

Bei der Globulinentfernung durch *Salzzusatz* und Elektrodialyse kann man so vorgehen, daß man in unserer Ausgangslösung durch Zugabe des gleichen Volumens von gesättigter Ammonsulfatlösung den Großteil des Globulins entfernt, darauf im Faltendialysator durch 8 bis 10 Tage bis zur Leitfähigkeit von etwa $2{,}4 \cdot 10^{-3}$ dialysiert und nun mittels vorsichtiger Elektrodialyse entsalzt, wobei das Globulin ausfällt, was meist in 12 Stunden vollzogen ist. Durch fortgesetzte Elektrodialyse kann die verbleibende Eiweißlösung bis zur Leitfähigkeit $k = 3 \cdot 10^{-6}$ gebracht werden und zeigt dann weder auf Halbsättigung mit Ammonsulfat noch bei Elektrodialyse unter erneutem Zusatz dieses Salzes (bis $k = 2{,}4 \cdot 10^{-3}$) irgend eine Trübung.

Als typisches, meist angewendetes Verfahren der vollständigen Globulinentfernung und Herstellung reinster Albuminlösungen diente uns das folgende: Die durch Elektrodialyse (ED) gewonnene, Globulin und Albumin enthaltende salzfreie Eiweißlösung wird bis zu einer Endkonzentration n/100 mit Neutralsalz, in der Regel Ammonsulfat, versetzt. Bei der ED tritt nun Schichtung und Globulintrübung auf, wobei das Salz wieder aus der Mittelzelle austritt. Man wiederholt diesen Salzzusatz unter ED immer wieder, bis schließlich nur Schichtung, aber keine Trübung mehr erfolgt, und gelangt so zu reinen, vollständig stabilen Albuminlösungen, die auf keine Art mehr irgend einen Globulingehalt erkennen lassen. Da es sich um sehr geringe Endkonzentrationen Salz handelt, braucht die gesamte Volumenänderung durch diesen Zusatz nur bis 10 Proz. zu betragen[1]). Man kann so, zumal unter Benutzung der Schichtung zur Abtrennung eines Teiles des Wassers, zu reinen, konzentrierteren sowohl gegen fortgesetzte Dialyse als auch bei jahrelangem Stehen stabilen Albuminlösungen gelangen, deren Eigenschaften anschließend beschrieben werden. Da sich auch mit dem Faltendialysator und Verdünnung das Globulin restlos aus unseren vorbehandelten Lösungen entfernen läßt, konnte in quantitativen Versuchen gezeigt werden, daß man dabei zu dem gleichen Werte für das reine Albumin in der Ausgangslösung gelangt, wie unter Anwendung von Salzzusatz und Elektrodialyse. Letztere ist also nicht imstande, zur Bildung von Globulin auf Kosten von Albumin Anlaß zu geben.

Die Rolle verschiedener Salze und die Theorie der Globulinverdrängung durch dieselben sowie das Schichtungsphänomen bilden den Gegenstand besonderer, zum Teil weit zurückreichender Untersuchungen am Institut, die den nächsten Mitteilungen vorbehalten sind.

---

[1]) Hätte man etwa 100 ccm Serumeiweiß in der Mittelzelle, so braucht man bei der Schichtung immer nur 1 ccm der obersten eiweißfreien Schicht zu entfernen und unter Rühren durch 1 ccm n Salzlösung zu ersetzen.

2. Ovalbumin. Eiklar wird vom Dotter getrennt, zu Schaum geschlagen, unter Toluolzusatz filtriert, mit destilliertem Wasser auf das doppelte Volumen gebracht, dann 10 Tage im Faltendialysator dialysiert und hierauf entweder durch Verdünnung und ED oder durch ED bei wiederholtem Salzzusatz, z. B. von Kaliumsulfat, in der Endkonzentration von n/100 globulinfrei gemacht. Es genügte in der Regel viermalige Wiederholung dieser Prozedur zur Gewinnung reinster wasserklarer, farbloser Lösungen von etwa 4 Proz. Ovalbumin.

3. Glutin. Gelatine „Goldmarke" wurde zunächst durch 12 Tage bei täglich zweimaligem Wasserwechsel gegen destilliertes Wasser dialysiert, dann eingeschmolzen, filtriert und durch mindestens 5 Tage zuerst bei einer Spannung von 220, dann 440 Volt elektrodialysiert.

Wir geben im folgenden eine kleine Zusammenstellung aus einer sehr großen Zahl von verschiedenen Proben, welche über die Größenordnungen der (in bezug auf Wasser korrigierten) konstanten Leitfähigkeiten von genügend gereinigten Eiweißlösungen unmittelbar nach der Entnahme aus dem Elektrodialysierapparat orientiert.

Tabelle III.

Substanz	$K_{korrig.}$	Volt ED
6proz. Glutin	$12{,}0 \cdot 10^{-6}$	440
2,5proz. Glutin	$7{,}93 \cdot 10^{-6}$	440
3,23proz. Ovalbumin ...	$11{,}4 \cdot 10^{-6}$	220
2,0proz. Ovalbumin	$8{,}1 \cdot 10^{-6}$	220
1,6proz. Seralbumin (Rind)	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$	220
4,6proz. Seralbumin (Pferd)	$5{,}3 \cdot 10^{-6}$	220
4proz. Seralbumin (Rind) .	$5{,}0 \cdot 10^{-6}$	440

III. Einwirkung von Kohlensäure.

Anläßlich einer anderweitigen Untersuchung von *Pauli* und *Monath*[1]) war die Beobachtung gemacht worden, daß die Leitfähigkeit eines frisch der ED (Elektrodialyse) entnommenen Albumins beim Stehen an der Luft rasch ansteigt. Dieses Verhalten mußte wohl, da es durch ED glatt reversibel ist, auf eine besondere Affinität reinster Eiweißstoffe zur Kohlensäure der Luft bezogen werden und gab den Anlaß zu den folgenden Untersuchungen.

Die Erscheinung zeigte sich ganz allgemein bei allen elektrodialysierten, wasserlöslichen Eiweißkörpern, so daß angenommen werden kann, daß schon der erste gemessene Wert (bei 25° C im Thermostaten), welcher selbst bei schnellem Arbeiten doch einer etwa 10 Minuten langen Berührung des Eiweißes mit der Luft entspricht, in der Regel dadurch merklich erhöht ist.

[1]) Beziehungen reinster Eiweißkörper zu Salzen ($AlCl_3$), erscheint in dieser Reihe, wurde vor 3 Jahren ausgeführt.

Wir haben es zunächst unterlassen, aus einer zeitlichen Messungsreihe Anfangswerte zu extrapolieren oder durch Aufbau einer immerhin komplizierten Apparatur die Zeit bis zur Messung abzukürzen oder den Luftzutritt ganz zu verhindern, sondern begnügen uns mit der ersten Messung höchstens 10 Minuten nach rascher Entnahme aus der Elektrodialysezelle. Alle Leitfähigkeitsbestimmungen gelten für 25° C. Nach einer Stunde pflegt die Leitfähigkeit im Leitfähigkeitsgefäß auf das Doppelte und mehr des Anfangswertes angestiegen zu sein. Der folgende Versuch belehrt über das Verhalten eines vollständig globulinfrei elektrodialysierten Seralbumins (Rind).

Tabelle IV. (4,7 proz. R S-Albumin.)

Behandlung	$K = K' - K_{H_2O}$	C_H	$K - C_H . 400 . 10^{-3}$	Restnormalität m
ED 440 V . .	$5 . 10^{-6}$	$6{,}95 . 10^{-6}$	$2{,}2 . 10^{-6}$	$22 . 10^{-6}$
48h gestanden	$29 . 10^{-6}$	—	$26{,}2 . 10^{-6}$	$262 . 10^{-6}$
30′ mit CO_2 durchströmt	$71 . 10^{-6}$	$6{,}95 . 10^{-6}$	$68 \ . 10^{-6}$	$680 . 10^{-6}$

Die Wasserkorrektur K_{H_2O} wird im Versuch für ED bei 440 Volt im Mittel mit $2 . 10^{-6}$ r. O. festgestellt. Für Wasser an der Luft wird sie mit $4 . 10^{-6}$ und der gleiche Wert auch für Kohlensäuresättigung des Eiweißes genommen, da die CO_2 mit dem Eiweiß reagiert, wobei die Leitfähigkeit der Lösung sich auch bei Wasserstoffdurchleitung zum Unterschied von reinem Wasser wenig ändert. Die mit unserer rotierbaren H_2-Elektrode[1]) bei entsprechender Sorgfalt befriedigend meßbare H-Konzentration wird in der Weise verwertet, daß diesen H-Ionen Eiweißionen von der Type $R . NH_2 . COO^-$ zugeordnet werden, auf die nach allen Erfahrungen höchstens eine Beweglichkeit $v^{25^0} = 50$ r. O. entfallen kann. Die so errechnete Leitfähigkeit ist wesentlich kleiner als die Gesamtleitfähigkeit der Eiweißlösung. Daß die vorhandenen H-Ionen die Gegenionen eines negativen Kolloidions darstellen, geht nicht nur aus ihrem Konstantbleiben bei der ED hervor, sondern wird auch durch die anodische Wanderung des Albumins im *Landsteiner-Pauli*schen Überführungsapparat erhärtet. Zieht man die für das negative Eiweißion und die zugehörigen H-Ionen berechnete Leitfähigkeit von der Gesamtleitfähigkeit ab, so verbleibt eine Restleitfähigkeit, die auf nicht dialysable Ionen bezogen werden muß. Diese Restleitfähigkeit ist es nun, welche beim Stehen der Eiweißlösung an der Luft und noch mehr bei Durchleitung mit Kohlensäure anwächst, und da bei diesen Prozeduren die H-Ionen konstant bleiben, so sind die unter der CO_2-Einwirkung im Eiweiß gebildeten adialysablen

---

[1]) *Pauli* und *Matula*, Koll.-Zeitschr. **21**, 51, 1917.

Ionen die alleinigen Träger der Leitfähigkeitsvermehrung. Man kann zu einer Schätzung ihrer Konzentration dadurch gelangen, daß man den gebildeten Ionen eine mittlere Beweglichkeit $V = 50$ r. O. zuweist, die eher zu hoch gegriffen ist, also zu einem Mindestwert der Ionenkonzentration führt.

Für diese Berechnung muß jedoch unter den vorhandenen Möglichkeiten eine gewisse Auswahl getroffen werden. Die Einleitung von CO_2 führt die Ionen H^+ und HCO_3^- zu, von denen die ersteren, wie die H-Messung lehrt, sicher nicht freibleiben. Das würde also zur Bildung positiver Eiweißionen führen, und da aus der Größe der Restleitfähigkeit hervorgeht, daß die gebildeten Ionen ein Mehrfaches der, den freien H-Ionen entsprechenden, negativen Eiweißionen darstellen, so müßte das Eiweiß in überwiegendem Maße zur Kathode wandern. Es ist jedoch das Gegenteil der Fall. Wir haben nun nach verschiedenen Erfahrungen allen Grund zu der Annahme, daß auch das HCO_3^--Ion mit dem Eiweiß reagiert, was ebensoviel negative Eiweißladungen ergeben würde, als durch die H-Ionen der Kohlensäure bedingte positive Eiweißladungen auftreten. Die starke Leitfähigkeitserhöhung durch die CO_2 zwingt uns ferner dazu, diese positiven und negativen Eiweißladungen nicht an ein und dasselbe Molekül, sondern getrennt an verschiedene Eiweißmoleküle gebunden zu denken, da in ersterem Falle ein nicht leitender Komplex resultieren würde. Es würde also ein Bimolekül Eiweiß, das etwa nach dem Typus eines carbaminsauren Ammoniums in ein positives und ein negatives Eiweißion dissoziiert, alle Bedingungen erfüllen, die in unserem Falle bekannt sind. Denn es käme dann weder ein Überschuß bestimmter Eiweißionen und damit eine Änderung des Wanderungssinnes zustande, noch würden freie H-Ionen gebildet, während zugleich eine starke Leitfähigkeitserhöhung durch adialysable Ionen erfolgt. Mit dem Beispiel des carbaminsauren Ammoniums soll jedoch nicht die theoretische Erklärung des hier erörterten und, wie gleich zugefügt werden soll, bei allen bisher untersuchten Eiweißkörpern auftretenden Phänomens, sondern nur eine gewisse Veranschaulichung desselben gegeben sein.

Nach diesen Vorstellungen würde die Restleitfähigkeit von der gleichen Anzahl positiver und negativer Eiweißionen hervorgebracht werden. Schreibt man wiederum diesen Ionen die mittleren Beweglichkeiten $u = v = 50$ r. O. zu, so würde m (letzte Kolonne Tabelle IV) die berechnete Normalität der ionisierten Bimoleküle des Albumins und $2\,m$ die der Eiweißionen vorstellen. Die $2\,m$-Werte zeigen, daß von den anwesenden Proteinionen schon im frischen Eiweiß nur ein Siebentel unter H-Ionenbildung, sechsmal so viel durch „*bimolekulare Ionisation*“ des Eiweißes entstanden sind, wie wir *vorläufig* den eben skizzierten Vorgang, welcher zwei proteinhaltige, entgegengesetzte

Ionen liefert, bezeichnen wollen. Beim bloßen Stehen an der Luft werden bereits 75mal so viel Eiweißionen durch Kohlensäureeinwirkung als durch Ionisation des Eiweißes als Säure erzeugt, und bei Sättigung mit CO_2 würden unter den gemachten Voraussetzungen $1360 \cdot 10^{-6}$ n Eiweißionen durch bimolekulare Ionisation neben $7 \cdot 10^{-6}$ n durch H^+-Ionisation entstandene in unserer Lösung gebildet werden.

Die hier gemachten Voraussetzungen führen auch in bezug auf das Molekulargewicht des Seralbumins zu nicht unplausiblen Größenordnungen. Nimmt man nämlich an, daß bei Sättigung im Kohlensäurestrom praktisch sämtliche Eiweißmoleküle, soweit sie nicht selbst H^+-Ionen dissoziieren, mit H_2CO_3 unter Bildung von Albuminionen reagiert haben, so gibt das eine Gesamtmolarität des Proteins von $2\,m + C_H$, also rund $1370 \cdot 10^{-6}$ n. Da unser Seralbumin 47 g im Liter enthielt, so wäre eine Lösung mit 1 g im Liter $29 \cdot 10^{-6}$ molar, entsprechend einem Molekulargewicht des Seralbumins von 34000. Diese Zahl entspricht zufällig dem von *S. P. L. Sörensen*[1]) aus genauen osmotischen Druckmessungen für das kristallisierte Ovalbumin ermittelten Wert. Wäre jedoch das wirkliche Molekulargewicht des Seralbumins kleiner, so würde unsere Berechnung besagen, daß nur ein Bruchteil der vorhandenen Moleküle mit CO_2 unter Ionenbildung reagiert hat. Ist das wirkliche Molekulargewicht größer, so müßte ein Eiweißmolekül mit mehreren Kohlensäuremolekülen in Reaktion getreten sein.

Ein in mancher Hinsicht günstigeres Objekt stellt das *Ovalbumin* dar. Während nämlich die H-Ionenaktivität des reinen Seralbumins relativ niedrig und in den gegebenen Eiweißkonzentrationen ziemlich tief unter der des isoelektrischen Punktes liegt, ist die des Ovalbumins eine recht hohe und schon bei 4 Proz. Eiweißgehalt sehr nahe der isoelektrischen, welche wir nach Bestimmungen mit der *Pauli*schen Alkoholfällungsmethode in Acetatpufferlösungen mit etwa $1{,}8 \cdot 10^{-5}$ n H ansetzen möchten. Man kann hier zunächst die am Seralbumin gemachten Beobachtungen über eine die H-Ionendissoziation nicht beeinflussende Bildung von Eiweißionen durch CO_2-Einwirkung bestätigen.

Ein 4proz., nach allen Proben sicher globulinfrei elektrodialysiertes Ovalbumin hatte unmittelbar einer ED mit 440 Volt. entnommen $K = 14 \cdot 10^{-6}$. Diese Leitfähigkeit war in 10 Tagen an der Luft auf $44 \cdot 10^{-6}$ angestiegen und erhöhte sich bei Durchleiten von CO_2 auf $69 \cdot 10^{-6}$ r. O. In unserer rotierenden H-Elektrode fand sich beim CO_2-durchströmten Albumin ebenso wie in der Ausgangslösung $C_H = 1{,}75 \cdot 10^{-5}$ n, ohne daß eine Änderung der Leitfähigkeit durch die H-Behandlung in der Elektrode erfolgte.

Es war nun von Interesse, den Gang der H-Ionenkonzentration mit der Verdünnung des Albumins kennenzulernen. Zur Erleichterung

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **106**, 1—129, 1919.

der Messungen, die bei der geringen Leitfähigkeit der Lösungen durch den trägen Ausschlag des Kapillarelektrometers erschwert wurden, wurde die Stammlösung auf n/100 KCl gebracht und in den daraus verdünnten Lösungen die potentiometrische H-Bestimmung ausgeführt. Ein Vorversuch hatte ebenso wie am 4,7proz. Seralbumin gezeigt, daß sowohl die 4- wie die 1proz. Ovalbuminlösung mit und ohne n/100 KCl das gleiche (H˙), nämlich 1,75 bzw. $1{,}65 \cdot 10^{-5}$ n enthielt. In der Tabelle V ist ein solcher Verdünnungsversuch wiedergegeben. Unter K sind die Leitfähigkeiten der bei 440 Volt elektrodialysierten Proben angeführt. Die letzte Kolonne enthält die Restleitfähigkeit nach Abzug des auf $H^+ + Alb.^-$ entfallenden Anteils.

Tabelle V (Ovalbumin).

Konzentration Proz.	Verdünnung	$C_H \cdot 10^5$	$K = K' - K_{H_2O}$	$K - [C_H \cdot 400 \cdot 10^{-3}]$
4,0	1	1,75	$14 \cdot 10^{-6}$	$7 \cdot 10^{-6}$
(3,32) *)	(—)	(1,69)	$(12 \cdot 10^{-6})$	$(5{,}2 \cdot 10^{-6})$
2,0	$^1/_2$	1,65	—	—
1,3	$^1/_3$	1,65	$8{,}2 \cdot 10^{-6}$	$1{,}6 \cdot 10^{-6}$
1,0	$^1/_4$	1,65	—	—
0,5	$^1/_8$	1,57	—	—
0,25	$^1/_{16}$	1,45	$5{,}8 \cdot 10^{-5}$	θ

*) Die eingeklammerten Werte beziehen sich auf eine andere besonders hergestellte Ovalbuminprobe.

Wir sehen zunächst, daß die H-Ionendissoziation trotz ihrer Erhöhung auch beim Ovalbumin nur einen Teil der Gesamtleitfähigkeit trägt. Ungefähr die Hälfte der letzteren wird von undialysablen, proteinhaltigen Ionen übernommen. Dieselben machen in der frisch elektrodialysierten (4proz.) Probe noch immer das Achtfache der H^+-dissoziierenden negativen Albuminionen aus. Beim Stehenlassen wächst ihr Anteil auf das 50fache und beim Durchleiten mit CO_2 auf das 80fache der vom Eiweiß gebildeten Säureanionen an, wie eine einfache Berechnung der obigen Versuchsdaten lehrt. Der Unterschied gegen Seralbumin, welches 75- bzw. 195mal so viel Ionen durch „bimolekulare Ionisation“ unter CO_2-Einwirkung bildet als H^+-dissoziierende Eiweißionen vorhanden sind, ist ein beträchtlicher. Er ist in erster Linie dadurch bedingt, daß die letztere Ionengattung beim Seralbumin etwa die Hälfte der gleichen beim Ovalbumin gebildeten ausmacht.

Die Verdünnungsversuche mit Ovalbumin zeigen zunächst, daß die H-Ionenkonzentration selbst auch bei Verdünnung auf $^1/_{16}$ um kaum 20 Proz. sinkt, und daß eine solche Eialbuminlösung mit ihrer Fähigkeit, die H^+-Ionen mit der Verdünnung relativ wenig zu ändern, in einem breiten Konzentrationsbereich sich geradezu wie ein Puffer

verhält. Betrachtet man die neben der H-Ionisation bestehende Restleitfähigkeit, so ergibt sich, daß sie mit der Verdünnung absinkt und schließlich in einer 0,25proz. Lösung auf Null gefallen ist. Hier wird also die ganze Leitfähigkeit der frisch elektrodialysierten Probe nur von ihren H^+- und den zugehörigen negativen Albuminionen getragen. Es liegt die Vermutung nahe, daß die, bei unserer Anordnung wenigstens, durch ED nicht wegzubringende Restleitfähigkeit der Ausgangslösungen darauf beruht, daß entweder in der konzentrierten Lösung die CO_2-Avidität schon in der kurzen Zeit der Messung genügend merkbar wird oder daß auch im elektrischen Felde die zeitliche, offenbar hydrolytische Ablösung des H^+ und HCO_3^- vom Eiweiß nur in verdünnten Lösungen vollständig genug erfolgt.

Mit dem Umstande, daß die H-Ionen bei der Verdünnung relativ wenig abfallen, während die Elektrodialyse in den verdünnten Lösungen die von der CO_2 bewirkte „bimolekulare Ionisation" beseitigt, würde die folgende Versuchsreihe an Seralbumin übereinstimmen, in welcher K' die Leitfähigkeit der mit der Luft im Gleichgewicht stehenden Proben und K'' dieselben Proben nach ED bei 440 Volt gemessen, wiedergibt. Beide Leitfähigkeiten sind in bezug auf H_2O korrigiert.

Tabelle VI (RS-Albumin).

Eiweiß Proz.	Verdünnung	K'	K''	$K' - K''$
4,7	1	29 . 10−6	4,6 . 10−6	24,4 . 10−6
2,4	etwa 1/2	18 . 10−6	—	—
1,2	1/4	12 . 10−6	—	—
0,6	1/8	8 . 10−6	—	—
0,3	1/16	5,5 . 10−6	—	—
0,15	1/32	4,9 . 10−6	1,37 . 10−6	3,53 . 10−6

In den Leitfähigkeitswerten K'' (nach der ED) bildet die H^+-Dissoziation des Albumins einen wesentlichen Anteil. Hier sinkt nun die Leitfähigkeit bei Verdünnung auf etwa $1/_{32}$ nur auf $1/_{3,5}$ des Ausgangswertes ab. Dagegen enthält die Differenz $K' - K''$ nur die durch CO_2-Einwirkung entstandene Leitfähigkeit. Diese fällt mit der gleichen Verdünnung immerhin auf mehr als ein Sechstel der Differenz in der Stammlösung ab.

Beim *Glutin* zeigen sich im allgemeinen die gleichen Erscheinungen, wie sie bisher am Ovalbumin und Seralbumin beschrieben wurden. Nach der ED liegen die Leitfähigkeitswerte ungefähr in der gleichen Höhe wie beim Ovalbumin. Sie fallen mit abnehmender Konzentration etwas stärker als bei diesem ab. Die folgenden Daten (Tabelle VII) sind aus zweierlei Proben kombiniert.

Tabelle VII (Glutin ED 440 Volt).

Trockengehalt Proz.	$K_{korrig.}$	Trockengehalt Proz.	$K_{korrig.}$
5,2	$16 \ . \ 10^{-6}$	1,3	$7 \ . \ 10^{-6}$
2,5	$9{,}3 \ . \ 10^{-6}$	0,65	$4{,}5 \ . \ 10^{-6}$

Auch die H-Werte der konzentrierten Lösungen liegen nur wenig unter den hohen Werten beim Ovalbumin. Die von der „bimolekularen Ionisation" stammende Restleitfähigkeit bildet selbst in den frischen, der ED 440 Volt entnommenen Proben mehr als die Hälfte der Gesamtleitfähigkeit, wie die Tabelle VIII zeigt. Demnach wäre also die „CO_2-Kapazität" von Glutin besonders groß. Dafür spricht auch, daß die Leitfähigkeit einer 2,5proz., mit ED 440 Volt gereinigten Gelatine infolge CO_2-Durchleitung von $9{,}3 \ . \ 10^{-6}$ auf $686 \ . \ 10^{-6}$ anstieg.

Tabelle VIII (Glutin).

Trockengehalt Proz.	$K_{korrig.}$	C_H *)	$K - C_H . 400 . 10^{-3}$	$2\,m$
5,2	$16 . 10^{-6}$	$14{,}5 \ . 10^{-6}$	$10{,}2 . 10^{-6}$	$204 . 10^{-6}$
1,3	$7 . 10^{-6}$	$4{,}96 . 10^{-6}$	$5{,}0 . 10^{-6}$	$100 . 10^{-6}$

*) Zur Messung der C_H einer in den höheren Konzentrationen erstarrenden Gelatine wird dieselbe in der Elektrode durch Bestrahlung (Kohlenfadenlampe) erwärmt und die Temperatur bestimmt. In den stets ausgeführten Doppelmessungen wurde die für die Temperatur nötige Korrektur berücksichtigt.

IV.

Fassen wir vorläufig die bisherigen Ergebnisse zusammen, so wurde zum erstenmal gefunden, daß sich die wasserlöslichen Eiweißkörper des Serums und Eiklars sowie das Glutin durch ED auf einen schließlich konstanten, niedrigsten Wert der Leitfähigkeit bringen lassen, der bei einer gewissen Verdünnung des Ovalbumins gänzlich den vorhandenen H-Ionen und den zugehörigen negativen Eiweißionen entspricht. Ein solches Eiweiß war bisher noch nicht gekannt. An der Luft wächst die Leitfähigkeit des ED-Eiweißes und noch mehr bei Durchleitung von CO_2 an, ohne daß die H-Dissoziation eine Änderung erfährt. In Übereinstimmung damit bleibt dabei die anodische Wanderung des Albumins und soweit es einige Versuchsreihen erkennen ließen, auch sein isoelektrischer Punkt im Acetatpuffergemisch unverändert. Die CO_2-Wirkung auf unsere Eiweißstoffe ist durch ED vollständig reversibel. Wieweit sich die ED-Eiweißkörper vom Verhalten reinen Wassers gegen CO_2 unterscheiden, das lehren folgende Versuchsbeispiele.

1,6 proz. R-Serum hatte nach ED die Leitfähigkeit $k = 2 . 10^{-6}$, die im Reagenzglas an der Luft unter Toluol in 8 Tagen auf $79 . 10^{-6}$, nach weiteren 10 Tagen auf $90 . 10^{-6}$ anstieg. Durchleiten von CO_2 bewirkte ein

$k = 131.10^{-6}$, und dieser Wert blieb durch 1 Stunde an der Luft konstant. Längere Durchleitung von Elektrolytwasserstoff im Reagenzglas bringt ihn schließlich auf 122.10^{-6}. Dagegen erreicht destilliertes Wasser von $k = 4.10^{-6}$, in der gleichen Weise mit CO_2 durchströmt, eine Leitfähigkeit von 48.10^{-6}, und dieser Wert sinkt zum größten Teile in den ersten 15 Minuten an der Luft wieder ab. In einem zweiten Versuch fand sich bei 1,6 proz. ED-Serum durch Sättigung mit CO_2 ein Anstieg der Leitfähigkeit von $3,4.10^{-6}$ auf 133.10^{-6}, der nach sechsstündigem Stehen nur auf 125.10^{-6} absank.

Die Tatsache der unter der Einwirkung der Kohlensäure der Luft und selbst nach der Sättigung im Kohlensäurestrom ungeänderten H^+-Konzentration und elektrischen Eiweißwanderung, zusammengehalten mit der Höhe des auf diese Einwirkung zurückführenden Leitfähigkeitsanstiegs zwingt uns, wie es scheint, zu der Annahme, daß hierbei eine gleiche Anzahl positiver und negativer Eiweißionen durch Reaktion mit den Ionen-H^+ und HCO_3^- gebildet werden. Diese Zahl beträgt ein Vielfaches der unter H-Ionisation reagierenden Eiweißmoleküle.

Die Theorie dieser Reaktion soll erst beim Bericht über anderweitige Untersuchungen gegeben werden.

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, E. Fromm-Wien, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin-Dahlem, M. Hahn-Berlin, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin-Dahlem, K. Hess-Berlin-Dahlem, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, E. J. Lesser-Mannheim, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, S. Loewe-Dorpat, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Tübingen, O. Meyerhof-Berlin-Dahlem, L. Michaelis-Nagoya, H. Molisch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Frankfurt a. M., W. Omelianski-Leningrad, W. Ostwald-Leipzig, J. K. Parnas-Lemberg, Th. Paul-München, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-St. Petersburg, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappeiner-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, E. Trendelenburg-Freiburg i. Br., O. Warburg-Berlin, A. v. Wassermann-Berlin, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, W. Wichowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau.

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertzweiundfünfzigster Band

Fünftes und sechstes Heft

Ausgegeben am 8. November 1924



Berlin
Verlag von Julius Springer
1924

Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber,
Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,
zu richten.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Doch bittet der Verlag, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiexemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse dringend gebeten, sich, wenn irgend möglich, mit der kostenfrei zur Verfügung gestellten Anzahl zu begnügen, und falls mehr Exemplare unbedingt erforderlich sind, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen, um unliebsame Überraschungen zu vermeiden.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

152. Band. **Inhaltsverzeichnis.** Heft 5/6.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Beiträge zur Biochemie der Avitaminosen.

Von

Alexander Palladin.

Nr. 2.

Stickstoffwechsel (insbesondere Kreatinstoffwechsel) bei experimentellem Skorbut.

Von

Alexander Palladin und A. Kudrjawzewa.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium des medizinischen Instituts zu Charkow.)

(Eingegangen am 14. September 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Soviel uns bekannt ist, gibt es bezüglich des Stickstoffwechsels bei experimentellem Skorbut des Meerschweinchens nur folgende Arbeiten:

Levis und *Karr*[1]) untersuchten den Einfluß des durch Ernährung mit Hafer hervorgerufenen Skorbuts auf den Harnstoffgehalt des Blutes und verschiedener Organe (Leber, Herz, Lunge, Nieren und Muskulatur) von Meerschweinchen und fanden ihn bedeutend erhöht. Wurden dem Hafer Citronen (Früchte bzw. Saft) oder Kohl beigegeben, so kamen skorbutische Erscheinungen nicht zur Beobachtung, zugleich blieb auch der Harnstoffgehalt im Blut und Organen normal. Die Erhöhung des Harnstoffgehaltes bei experimentellem Skorbut nach Meinung von *Karr* und *Levis* „cannot be attributed to partial starvation or to lack of water alone". *Baumann* und *Howard*[2]), die hauptsächlich den Umsatz der Mineralsubstanzen studierten, fanden eine Verringerung der Stickstoffausscheidung.

Diese Angaben sind natürlich für das Verständnis des Wesens der durch den Skorbut verursachten Stoffwechselstörung durchaus ungenügend. Wir haben deshalb Versuche angestellt, um den Einfluß des experimentellen Skorbuts auf die Einzelmomente des Stickstoffumsatzes genauer aufzuklären. Einerseits prüften wir den Einfluß des Skorbuts auf die Ausscheidung des Gesamtstickstoffs, des Ammo-

[1]) *Lewis* und *Karr*, Journ. of biol. Chem. **28**, 19, 1916.

[2]) *Baumann* and *Howard*, Am. Journ. Med. Sc. **153**, 650, 1917.

niaks, Kreatinins und Kreatins im Harn, andererseits den Einfluß des Skorbuts auf die Prozesse des Kreatinumsatzes in den Muskeln bzw. auf den Gehalt der Muskeln an Kreatin.

Wie bei der Untersuchung[1]) des Einflusses des Skorbuts auf den Kohlenhydratstoffwechsel, so dienten auch hier als Versuchstiere ausgewachsene Meerschweinchen. Sie wurden in Glasbehältern untergebracht, ähnlich den von *Völtz* für Meerschweinchen empfohlenen. Diese Behälter erlauben ein restloses Auffangen des Harns. Als normales Futter wurden Hafer und Rüben angewandt (in einigen Versuchen Hafer und Rübensaft). Zum Hervorrufen des Skorbuts wurden die Meerschweinchen entweder mit Hafer gefüttert oder mit Hafer und gekochtem Rübensaft oder endlich mit Hafer und Rüben, die im Autoklaven eine Stunde bei 120° erhitzt worden waren. Der Harn wurde immer nach zwei Tagen gesammelt und sein Gehalt an Gesamtstickstoff, Ammoniak, Kreatinin und Kreatin bestimmt.

Die Bestimmung des Gesamtstickstoffs erfolgte nach der kolorimetrischen Methode von *Folin* und *Farmer*, modifiziert von *Gulick*[2]).

Die Bestimmung des Kreatinins und Kreatins im Harn geschah nach der Methode *Folin* und *Morris*[3]), wobei sowohl zur Bestimmung des Kreatinins wie auch des Kreatins je 10 ccm Harn verwendet wurden.

Das Ammoniak wurde nach *Hahn* und *Kootz*[4]) bestimmt.

In jedem Versuch wurde zuerst die normale Zusammensetzung des Harns (bei Hafer und Rüben) festgestellt und erst hiernach das normale Futter durch ein anderes ersetzt, das des Vitamins C beraubt war. Alle zwei Tage nach Sammlung des Harns wurden die Meerschweinchen gewogen. Während der normalen Fütterung nahm das Gewicht entweder zu oder hielt sich im allgemeinen auf der gleichen Höhe. *Nach dem Übergang auf das skorbuterzeugende Futter fiel das Gewicht* hier, wie auch bei den Versuchen zur Feststellung des Kohlehydratstoffwechsels[5]), *die ersten 14 bis 18 Tage entweder gar nicht oder doch nur langsam und unbedeutend, und erst in der Folge wurde der Abfall schärfer ausgeprägt.*

Tabelle I gibt das Protokoll eines der Versuche über den Stickstoffumsatz bei Haferfütterung. In normalem Zustande war das Gewicht des betreffenden Meerschweinchens (Nr. 6) zwischen 640 bis 675 g. Nach dem Übergang auf die Fütterung mit Vitamin-C-freiem Hafer sank das Gewicht in den ersten zwei Wochen sehr wenig (auf 625 g);

---

[1]) *Alexander Palladin*, diese Zeitschr. 1924.

[2]) *Gulick*, Journ. of biol. Chem. **18**, 541, 1914.

[3]) *Folin* und *Morris*, ebendaselbst **17**, 469, 1919.

[4]) *Hahn* und *Kootz*, diese Zeitschr. **105**, 220, 1920.

[5]) Siehe *A. Palladin*, Beiträge zur Biochemie der Avitaminosen. Mitteilung Nr. 1, diese Zeitschr. 1924.

Tabelle I.

Meerschweinchen Nr. 6, männlich.

Datum	Körpergewicht	Gehalt der Harnmenge von 2 Tagen an							Kreatininkoeffizient	Futter
		Gesamt-N	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht	Ammoniak-N	Kreatinin-N	Kreatin-N	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N	Ammoniak-N in Proz. des Ges.-N		
	g	g	mg	g	g	g	Proz.			
4. VI.	660	0,333	504	0,0051	0,0100	—	3,00	1,53	7,5	Hafer und Rüben (Normal ernährt)
6. VI.	640	0,346	540	0,0070	0,0110	—	3,18	2,02	8,5	
8. VI.	670	0,346	516	0,0056	0,0100	—	2,88	1,61	7,4	
10. VI.	660	0,300	454	0,0070	0,0110	—	3,66	2,33	8,3	
12. VI.	675	0,333	500	0,0051	0,0100	—	3,00	1,53	7,4	
Durchschnittlich		**0,331**	**503**	**0,0059**	**0,0104**	—	**3,14**	**1,80**	**7,8**	
14. VI.	665	0,346	523	0,0040	0,0123	—	3,55	1,15	8,3	Hafer (Skorbut)
16. VI.	660	0,300	454	0,0070	0,0083	0,0007	3,00	2,33	6,8	
18. VI.	640	0,333	520	0,0051	0,0083	0,0019	3,06	1,53	7,9	
20. VI.	640	0,273	424	0,0070	0,0100	0,0027	4,65	2,64	9,3	
22. VI.	630	0,273	433	0,0090	0,0071	0,0008	3,04	3,40	7,0	
24. VI.	620	0,233	375	0,0070	0,0083	0,0019	4,80	3,00	8,2	
26. VI.	625	0,220	352	0,0093	0,0071	0,0043	5,18	4,22	9,0	
Durchschnittlich		**0,282**	**440**	**0,0069**	**0,0088**	**0,0020**	**3,89**	**2,61**	**8,0**	
28. VI.	590	0,196	322	0,0070	0,0083	0,0043	6,42	3,57	10,6	Hafer (Skorbut)
30. VI.	610	0,220	360	0,0093	0,0071	0,0043	5,18	4,22	9,3	
2. VII.	560	0,196	350	0,0070	0,0083	0,0043	6,42	3,57	11,2	
4. VII.	530	0,206	388	0,0070	0,0100	0,0027	6,96	3,40	11,9	
6. VII.	490	0,233	475	0,0093	0,0123	0,0050	7,42	4,00	16,9	
8. VII.	425	0,333	783	0,0140	0,0142	0,0123	7,95	4,20	31,5	Am 8.VII. getötet
Durchschnittlich		**0,231**	**446**	**0,0089**	**0,0100**	**0,0054**	**6,61**	**3,82**	**15,2**	

Sektionsprotokoll: Starker skorbutischer Geruch aus dem Maule, Blutaustritt am Zahnfleisch, an den Ansatzstellen der Rippen an die Rippenknorpel, an den Knien, an den Zwischenrippenmuskeln und dem Pylorusteile des Magens; Backenzähne wackeln und lassen sich leicht mit der Pinzette herausnehmen. Dickdarm hyperämisch, Dünndarm und Magen stark aufgebläht.

am Ende der dritten Woche war es um 65 g, am Ende der vierten Woche um weitere 135 g gefallen, d. h. die Gewichtsabnahme trat noch schärfer hervor.

Die Gesamtmenge des Harnstickstoffs wurde vom Beginn des Skorbuts an allmählich kleiner; doch war diese Verringerung, wie aus der Tabelle ersichtlich, eine unbedeutende und allmähliche.

Am 26. Tage des Skorbuts regte das Meerschweinchen sich kaum mehr und bot alle Anzeichen eines nahen Todes, weshalb es auch getötet

wurde. Für die letzten zwei Tage ergab die Stickstoffausscheidung einen Aufstieg. In anderen Versuchen ergab der Stickstoffgehalt im Harn oft noch geringere Änderungen und blieb beinahe auf der normalen Höhe stehen. Das Bild ändert sich auch nicht, wenn wir den *Harnstickstoff auf Kilogramm Körpergewicht umrechnen*: *Auch hier sehen wir denselben allmählichen und geringfügigen Abfall, ausgenommen die letzten Tage vor dem Tode, wo ein scharfer Aufstieg zu verzeichnen ist.*

Die Ammoniakausscheidung gibt uns ein anderes Bild: *sie bekundet beim Skorbut eine deutliche Neigung zur Vergrößerung.* Dies tritt noch schärfer hervor, wenn der Ammoniakstickstoff in Prozenten des Gesamtstickstoffs ausgedrückt wird. Normalerweise wurden innerhalb zweier Tage 1,53 bis 2,33 Proz. des Gesamtstickstoffs in Gestalt von Ammoniakstickstoff ausgeschieden. In der dritten Skorbutwoche betrug der Ammoniakstickstoff schon 3,5 bis 4,2 Proz. des Gesamtstickstoffs.

Die Ausscheidung des Kreatinins wird beim Skorbut wenig verändert: sie zeigt sich entweder leicht verringert (Tabelle I) oder hält sich auf gleicher Höhe.

Kreatin kommt bei normaler Fütterung im Harn erwachsener Meerschweinchen nicht vor, wie aus den Protokollen sämtlicher Versuche hervorgeht. *Nach dem Übergang auf skorbuterzeugendes Futter tritt es schon am zweiten bis vierten Tage des Skorbuts auf und bleibt dann im Verlauf der ganzen Erkrankung bestehen, dabei nimmt seine Menge im Verlauf der Avitaminose beständig zu,* allerdings in den verschiedenen Versuchen mit verschiedener Intensität und Schnelligkeit. Bei Meerschweinchen Nr. 6 z. B. stieg seine zweitägige Menge innerhalb 24 Tagen von 0,0007 auf 0,005 g.

Wenn wir die Stickstoffmenge des Kreatinins und Kreatins in Prozenten des Gesamtstickstoffs ausdrückten, so sagen uns die so erhaltenen Ziffern, daß *im Verlauf des Skorbuts ein immer größerer Teil des Gesamtstickstoffs des Harns in Gestalt von Kreatin- und Kreatininstickstoff erscheint.*

Beim Meerschweinchen Nr. 6 (Tabelle I) kamen in der Norm auf Kreatininstickstoff 3 bis 3,6 Proz. des Gesamtstickstoffs. Am 22. Skorbuttage wurden schon 6,2 Proz. des Gesamtstickstoffs in Form von Kreatinin- und Kreatinstickstoff ausgeschieden. Ebenso verhielt es sich auch in allen anderen Versuchen.

Noch anschaulicher wird der Einfluß des Skorbuts auf die Ausscheidung des Kreatins und Kreatinins, wenn man berechnet, welche Menge von Gesamtkreatininstickstoff (Kreatinstickstoff + Kreatininstickstoff) pro Tag auf 1 kg des Versuchstieres entfällt. Das ist der sogenannte *Kreatininkoeffizient.* Wie aus Tabelle I ersichtlich, *wird der Kreatininkoeffizient bei Verabreichung eines vom Vitamin C befreiten Futters ziemlich bedeutend vergrößert* (von 7,4 auf 12 bis 16,9).

Ein analoges Bild des Einflusses des Skorbuts auf die Ausscheidung des Gesamtstickstoffs, Ammoniaks, Kreatinins und Kreatins gaben auch alle übrigen Versuche. Die betreffenden Protokolle sind wiedergegeben in den Tabellen II bis VIII.

Tabelle II. Meerschweinchen Nr. 11.

Datum	Körpergewicht	Gehalt der Harnmenge von 2 Tagen an							Kreatininkoeffizient	Futter
		Gesamt-N	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht	Ammoniak-N	Ammoniak-N des Ges.-N	Kreatinin-N	Kreatin-N	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N		
	g	g	mg	g	Proz.	g	g	Proz.		
29. VI.	400	0,220	550	0,0037	1,68	0,0076	—	3,45	9,5	Hafer und Rüben
1. VII.	410	0,206	500	0,0032	1,55	0,0076	—	3,68	9,0	
3. VII.	400	0,220	500	0,0037	1,68	0,0086	—	4,00	10,5	
5. VII.	400	0,206	510	0,0034	1,65	0,0086	—	4,00	10,5	
7. VII.	370	0,220	590	0,0034	1,54	0,0076	0,0011	4,00	11,5	Hafer (Skorbut)
9. VII.	375	0,195	520	0,0033	2,71	0,0083	0,0019	5,12	13,5	
11. VII.	380	0,208	540	0,0049	2,35	0,0086	0,0027	5,43	14,5	
13. VII.	380	0,220	570	0,0049	2,22	0,0083	0,0019	4,54	13,0	
15. VII.	400	0,195	480	0,0053	2,71	0,0086	0,0027	5,78	14,0	
17. VII.	390	0,208	530	0,0070	3,36	0,0076	0,0011	4,18	11,0	
19. VII.	380	0,180	470	0,0070	3,88	0,0086	0,0027	6,27	14,5	
21. VII.	360	0,195	540	0,0049	2,51	0,0100	0,0050	7,69	20,5	
23. VII.	330	0,208	630	0,0090	4,29	0,0100	0,0070	8,17	25,5	
25. VII.	300	0,233	770	0,0110	5,00	0,0086	0,0130	8,58	33,0	Tot

Tabelle III. Meerschweinchen Nr. 9, männlich.

Datum	Körpergewicht	Gehalt der Harnmenge von 2 Tagen an							Kreatininkoeffizient	Futter
		Gesamt-N	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht	Ammoniak-N	Ammoniak-N des Ges.-N	Kreatinin-N	Kreatin-N	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N		
	g	g	mg	g	Proz.	g	g	Proz.		
15. VI.	496	0,333	660	0,0037	1,11	0,0083	—	2,49	8,0	Hafer und Rüben
17. VI.	516	0,253	500	0,0049	1,93	0,0100	—	3,95	9,5	
19. VI.	490	0,273	550	0,0037	1,36	0,0106	—	3,66	10,5	
21. VI.	495	0,273	540	0,0037	1,36	0,0100	—	3,66	10,0	
23. VI.	498	0,253	500	0,0037	1,46	0,0083	—	3,25	8,0	
25. VI.	480	0,273	560	0,0049	1,78	0,0110	0,0015	4,57	12,5	Hafer (Skorbut)
27. VI.	454	0,253	550	0,0070	2,76	0,0071	0,0015	3,40	9,0	
29. VI.	450	0,233	510	0,0070	3,04	0,0066	0,0023	3,81	9,5	
1. VII.	448	0,220	500	0,0049	2,22	0,0100	0,0027	5,77	14,0	
3. VII.	434	0,186	430	0,0049	2,64	0,0066	0,0023	4,81	10,0	
5. VII.	420	0,206	500	0,0070	3,38	0,0071	0,0030	4,85	11,5	
7. VII.	400	0,220	550	0,0090	4,09	0,0083	0,0071	4,54	21,0	
9. VII.	370	0,206	550	0,0070	3,39	0,0071	0,0030	4,85	13,5	
11. VII.	340	0,233	680	0,0090	3,86	0,0100	0,0110	9,01	30,5	
13. VII.	300	0,273	910	0,0140	5,12	0,0100	0,0170	9,89	10,0	Tot am 14. VII.

Tabelle IV.

Meerschweinchen Nr. 10, weiblich.

Datum	Körpergewicht	Gehalt der Harnmenge von 2 Tagen an							Kreatininkoeffizient	Futter
		Gesamt-N	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht	Ammoniak-N	Ammoniak-N des Ges.-N	Kreatinin-N	Kreatin-N	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesam.-N		
	g	g	mg	g	Proz.	g	g	Proz.		
28. VI.	410	0,270	650	0,0070	2,59	0,0106	—	3,92	12,5	Hafer und Rüben
30. VI.	410	0,250	600	0,0049	1,96	0,0110	—	4,40	13,5	
2. VII.	400	0,300	750	0,0037	1,23	0,0100	—	3,33	12,5	
4. VII.	410	0,270	650	0,0049	1,81	0,0110	—	4,07	13,5	
6. VII.	410	0,250	600	0,0049	1,96	0,0100	—	4,00	12,0	Hafer (Skorbut)
8. VII.	415	0,270	650	0,0052	1,92	0,0083	0,0019	3,77	12,0	
10. VII.	420	0,230	540	0,0070	3,04	0,0086	0,0027	4,82	13,0	
12. VII.	415	0,135	320	0,0070	5,18	0,0090	0,0029	8,81	14,0	
14. VII.	400	0,250	620	0,0070	2,80	0,0083	0,0030	4,52	14,0	
16. VII.	410	0,220	530	0,0053	2,40	0,0100	0,0020	5,45	14,5	
18. VII.	400	0,250	620	0,0070	2,80	0,0090	0,0030	4,80	15,0	
20. VII.	370	0,230	620	0,0090	3,91	0,0100	0,0040	6,08	18,5	
22. VII.	340	0,270	790	0,0049	1,81	0,0110	0,0060	6,29	25,0	
24. VII.	300	0,300	1000	0,0110	3,66	0,0123	0,0086	6,96	34,5	Tot am 25. VII.

Tabelle V.

Meerschweinchen Nr. 2, männlich.

Datum	Körpergewicht	Gehalt der Harnmenge von 2 Tagen an							Kreatininkoeffizient	Futter
		Gesamt-N	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht	Ammoniak-N	Ammoniak-N des Gesamt-N	Kreatinin-N	Kreatin-N	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N		
	g	g	mg	g	Proz.	g	g	Proz.		
29. V.	528	0,240	450	0,0032	1,25	0,0089	—	3,70	8,0	Hafer und Rüben
31. VI.	538	0,225	410	0,0028	1,24	0,0083	—	3,68	7,5	
2. VI.	537	0,240	440	0,0032	1,33	0,0076	—	3,16	7,0	
4. VI.	545	0,240	440	0,0045	2,25	0,0083	—	3,45	7,5	
6. VI.	553	0,255	—	0,0054	2,11	0,0089	—	3,48	8,0	
8 VI.	516	0,290	450	0,0037	1,27	0,0083	—	2,86	8,0	Hafer (Skorbut)
10. VI.	501	0,340	600	0,0045	1,32	0,0093	0,0034	3,73	12,0	
12. VI.	484	0,290	610	0,0045	1,55	0,0110	0,0043	5,26	15,5	
14. VI.	490	0,290	590	0,0086	2,96	0,0073	0,0023	3,31	9,5	
16. VI.	461	0,275	580	0,0054	1,96	0,0083	0,0043	4,58	13,0	
18. VI.	457	0,290	630	0,0086	2,96	0,0073	0,0043	4,00	11,5	
20. VI.	449	0,275	610	0,0110	4,00	0,0055	0,0033	3,20	10,0	
22. VI.	431	0,290	670	0,0144	4,96	0,0076	0,0019	3,27	10,5	
24. VI.	395	0,390	850	0,0144	4,23	0,0076	0,0083	4,67	19,0	Am 25. VI. tot

Tabelle VI.
Meerschweinchen Nr. 7, männlich.

Datum	Körpergewicht	Gehalt der Harnmenge von 2 Tagen an							Kreatininkoeffizient	Futter
		Gesamt-N	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht	Ammoniak-N	Ammoniak-N des Gesamt-N	Kreatinin-N	Kreatin-N	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N		
	g	g	mg	g	Proz.	g	g	Proz.		
24. VI.	425	0,300	690	0,0049	1,63	0,0090	—	3,00	10,5	Hafer und Rüben
26. VI.	421	0,270	690	0,0070	2,59	0,0106	—	3,92	11,5	
28. VI.	435	0,230	530	0,0049	2,12	0,0100	—	4,77	11,0	
30. VI.	437	0,250	560	0,0070	3,04	0,0106	—	4,24	11,0	
2. VII.	422	0,230	540	0,0070	3,04	0,0090	—	4,17	10,5	Hafer (Skorbut)
4. VII.	415	0,230	540	0,0049	2,13	0,0100	0,0011	4,82	13,0	
6. VII.	416	0,270	640	0,0049	1,81	0,0083	0,0019	3,77	11,5	
8. VII.	400	0,250	620	0,0070	2,80	0,0086	0,0027	4,52	11,5	
10. VII.	395	0,270	670	0,0053	2,00	0,0083	0,0019	3,77	12,5	
12. VII.	375	0,230	620	0,0070	3,04	0,0086	0,0027	4,91	14,0	
14. VII.	341	0,270	790	0,0070	2,59	0,0100	0,0027	4,70	17,5	
16. VII.	314	0,270	800	0,0090	3,33	0,0110	0,0036	5,40	22,0	
18. VII.	293	0,300	1000	0,0110	3,66	0,0083	0,0093	5,86	29,0	Tot am 20. VII.

Tabelle VII.
Meerschweinchen Nr. 3, weiblich.

Datum	Körpergewicht	Gehalt der Harnmenge von 2 Tagen an							Kreatininkoeffizient	Futter
		Gesamt-N	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht	Ammoniak-N	Ammoniak-N des Gesamt-N	Kreatinin-N	Kreatin-N	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N		
	g	g	mg	g	Proz.	g	g	Proz.		
8. V.	470	0,270	574	0,0023	0,87	0,010	—	3,70	10,5	Hafer und Rüben
10. V.	460	0,300	652	0,0030	1,01	0,009	—	3,00	10,0	
12. V.	469	0,286	608	0,0032	1,13	0,010	—	3,50	10,5	
14. V.	460	0,346	752	0,0040	1,17	0,0055	0,0008	1,73	6,5	Hafer
16. V.	440	0,333	756	0,0070	2,10	0,0055	0,0015	2,10	7,5	
18. V.	445	0,220	500	0,0070	3,18	0,0062	0,0018	3,63	8,5	
20. V.	450	0,300	666	0,0070	2,33	0,0083	0,0019	3,40	11,0	
22. V.	445	0,253	567	0,0056	2,18	0,0055	0,0015	2,30	7,5	
24. V.	430	0,220	511	0,0093	4,22	0,0055	0,0015	3,18	8,0	
26. V.	395	0,166	422	0,0140	8,43	0,0050	0,0015	4,09	8,5	
28. V.	340	0,253	744	0,0093	3,70	0,0071	0,0034	4,15	14,5	
30. V.	320	0,273	853	0,0180	6,59	0,0062	0,0123	6,77	28,0	Am 1. VI. tot

Tabelle VIII.

Meerschweinchen Nr. 4, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Gehalt der Harnmenge von 2 Tagen an: Gesamt-N g	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht mg	Ammoniak-N g	Ammoniak-N des Gesamt-N Proz.	Kreatinin-N g	Kreatin-N g	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N Proz.	Kreatininkoeffizient	Futter
23. V.	360	0,196	544	0,0032	2,76	0,0071	—	3,62	9,5	Hafer und Rüben
25. V.	340	0,206	605	0,0023	1,11	0,0662	—	3,00	8,5	
27. V.	335	0,180	533	0,0032	1,77	0,0071	—	3,94	10,0	
29. V.	338	0,196	579	0,0023	1,70	0,0060	—	3,36	8,5	
31. V.	340	0,180	539	0,0028	1,55	0,0071	—	3,94	10,0	Hafer
2. VI.	340	0,206	605	0,0037	1,79	0,0062	0,0010	3,49	10,0	
4. VI.	310	0,196	632	0,0037	1,88	0,0055	0,0027	4,18	12,5	
6. VI.	295	0,196	664	0,0051	2,60	0,0058	0,0030	4,48	13,5	
8. VI.	260	0,233	896	0,0051	2,18	0,0071	0,0082	6,56	28,5	
10. VI.	225	0,273	1220	0,0070	2,56	0,0050	0,0050	3,66	21,5	Tot am 11. VI.

Wir sehen also, daß der experimentelle Skorbut einen bestimmten Einfluß auf den Kreatinumsatz (soweit letzterer in der Ausscheidung des Kreatinins und Kreatins zum Ausdruck kommt) und auf die Ausscheidung des Ammoniaks ausübt. Die Ausscheidung des Kreatinins und Kreatins zusammengenommen, wie auch die Ausscheidung des Ammoniaks vergrößert sich sowohl absolut wie auch relativ (im Verhältnis zum Gesamtstickstoff).

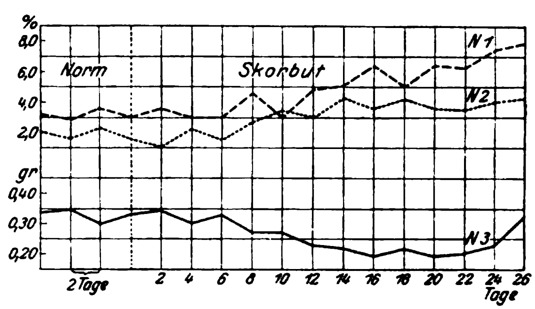


Abb. 1. *Ausscheidung des Gesamtstickstoffs, des Ammoniaks, des Kreatinins und Kreatins bei Meerschweinchen, bei normaler Ernährung und bei Verabreichung eines vom antiskorbutischen Vitamin C befreiten Futters.* № 3. Kurve des Gesamtstickstoffs in Grammen (2 tägige Mengen). 1. Kurve des Kreatinins und Kreatins, ausgedrückt in Prozenten des Gesamtstickstoffs. 2. Kurve der Ammoniakausscheidung (Ammoniakstickstoff) in Prozenten des Gesamtstickstoffs. Auf der Abscissenachse die Versuchstage.

Auf der Abb. 1 ist der Einfluß des Skorbuts auf die Ausscheidung des Gesamtstickstoffs, des Ammoniakstickstoffs und des Kreatinin- und Kreatinstickstoffs dargestellt.

Um die Meerschweinchen während des skorbutischen Zustandes unter möglichst gleichen Bedingungen wie im normalen Zustande zu halten, wurden die Versuche angestellt, in welchen die Änderung ihrer Lebensweise während des Skorbuts einzig darin bestand, daß die Futtersubstanzen von dem antiskorbutischen Vitamin befreit wurden. Es wurden zwei Reihen von solchen Versuchen angestellt. In der einen bestand das normale Futter aus Hafer und durch Pressung gewonnenem Rübensaft, das skorbuterzeugende bzw. während des Skorbuts zur Verfütterung gelangende Futter hingegen aus Hafer und ebensolchem Rübensaft nach vorhergegangener einstündiger Abkochung im Wasserbade. In der anderen Versuchsreihe bestand das normale Futter aus Hafer und Rüben, das vitaminfreie hingegen aus Hafer und Rüben, die im Autoklaven eine Stunde lang auf 120⁰ erhitzt worden waren.

Die Resultate der einen (Tabelle IX) wie auch der anderen Versuchsreihe (Tabellen X bis XII) deckten sich im allgemeinen vollständig mit den oben beschriebenen, wie dies aus den Tabellen IX bis XII ersichtlich ist.

Tabelle IX.

Meerschweinchen Nr. 8.

Datum	Körpergewicht g	Gehalt der Harnmenge von 2 Tagen an: Gesamt-N g	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht mg	Ammoniak-N g	Ammoniak-N des Ges.-N Proz.	Kreatinin-N g	Kreatin-N g	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N Proz.	Kreatininkoeffizient	Futter
26. VI.	680	0,300	441	0,0037	1,23	0,0100	—	3,70	8,0	Hafer und Rübensaft
28. VI.	660	0,253	389	0,0051	2,01	0,0083	—	4,03	7,5	
30. VI.	670	0,233	347	0,0049	2,10	0,0071	—	3,68	6,0	
2. VII.	650	0,300	461	0,0049	1,63	0,0083	—	3,40	7,5	
4. VII	660	0,273	413	0,0037	1,35	0,0084	—	3,11	6,3	
6. VII.	665	0,233	353	0,0049	2,10	0,0123	—	6,26	10,5	Hafer und gekochter Rübensaft
8. VII.	650	0,253	384	0,0070	2,76	0,0110	0,0011	4,94	9,0	
10. VII.	650	0,253	384	0,0070	2,76	0,0123	0,0015	6,83	13,0	
12. VII.	600	0,233	388	0,0090	3,86	0,0142	0,0019	8,66	16,5	
14. VII.	635	0,253	398	0,0070	2,76	0,0123	0,0056	6,83	13,0	
16. VII.	620	0,233	375	0,0070	3,00	0,0123	0,0015	7,41	13,5	
18. VII.	610	0,253	414	0,0090	3,00	0,0142	0,0050	7,93	16,0	
20. VII.	580	0,300	517	0,0110	3,66	0,0142	0,0060	6,73	17,0	
22. VII.	525	0,333	634	0,0140	4,24	0,0142	0,0060	7,74	24,5	Getötet am 23. VII.

Tabelle X.

Meerschweinchen Nr. 14, männlich.

Datum	Körpergewicht g	Gehalt der Harnmenge von 2 Tagen an: Gesamt-N g	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht mg	Ammoniak-N g	Ammoniak-N des Ges.-N Proz.	Kreatinin-N g	Kreatin-N g	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N Proz.	Kreatininkoeffizient	Futter
8. VIII.	440	0,220	500	0,0049	2,22	0,0083	—	3,77	9,0	Hafer und Rüben
10. VIII.	430	0,210	480	0,0037	1,28	0,0086	—	4,07	10,0	
12. VIII.	440	0,220	510	0,0051	2,31	0,0091	—	4,13	10,0	
14. VIII.	450	0,210	485	0,0037	1,76	0,0086	—	4,07	9,0	
16. VIII.	480	0,210	435	0,0056	2,66	0,0086	—	4,07	8,5	
18. VIII.	470	0,170	360	0,0051	3,00	0,0083	—	4,88	8,5	Hafer u. *autoklavisierte* Rüben (Skorbut)
20. VIII.	460	0,190	415	0,0049	2,57	0,0094	—	5,00	14,5	
22. VIII.	460	0,215	510	0,0056	2,66	0 0083	0,0027	5,23	11,5	
24. VIII.	460	0,220	460	0,0067	3,04	0,0110	0,0056	7,54	18,0	
26. VIII.	460	0,250	540	0,0063	2,52	0,0126	0,0051	7,08	19,0	
28. VIII.	450	0,255	555	0,0076	3,04	0,0115	0,0051	6,64	18,0	
30. VIII.	420	0,235	572	0,0081	3,52	0,0106	0,0033	6,08	16,5	
1. IX.	380	0,230	604	0,0079	3,43	0,0111	0,0037	6,43	19,0	
3. IX.	350	0,250	615	0,0091	3,64	0,0106	0,0033	5,60	20,0	
5. IX.	300	0,215	705	0,0083	4,00	0,0060	0,0073	6,33	21,5	Tot am 6. IX.

Tabelle XI.

Meerschweinchen Nr. 15, weiblich.

Datum	Körpergewicht g	Gesamt-N g	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht mg	Ammoniak-N g	Ammoniak-N des Ges.-N Proz.	Kreatinin-N g	Kreatin-N g	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N Proz.	Kreatininkoeffizient	Futter
15. VIII.	440	0,300	650	0,0041	1,36	0,0083	—	2,76	9,0	Hafer und Rüben
17. VIII.	440	0,272	620	0,0037	1,37	0,0091	—	3,37	10,0	
19. VIII.	440	0,250	560	0,0049	1,96	0,0089	—	3,56	10,0	
21. VIII.	430	0,230	530	0,0037	1,60	0,0083	—	3,60	9,5	
23. VIII.	410	0,235	560	0,0056	2,43	0,0091	—	3,95	11,0	Hafer u. *autoklavisierte* Rüben (Skorbut)
25. VIII.	400	0,250	620	0,0041	1,64	0,0097	—	3,88	14,0	
27. VIII.	400	0,230	570	0,0063	2,72	0,0100	0,0031	5,68	21,0	
29. VIII.	360	0,300	830	0,0063	2,10	0,0090	0,0027	3,90	16,0	
31. VIII.	330	0,310	900	0,0072	2,40	0,0110	0,0021	4,40	19,5	
2. IX.	300	0,295	990	0,0079	2,72	0,0123	0,0063	6,20	31,0	
4. IX.	250	0,230	920	0,0081	3,52	0,0113	0,0086	8,63	20,0	

Tabelle XII.

Meerschweinchen Nr. 16.

Datum	Körpergewicht g	Gesamt-N g	Gesamt-N pro 1 kg Körpergewicht mg	Ammoniak-N g	Ammoniak-N des Ges.-N Proz.	Kreatinin-N g	Kreatin-N g	(Kreatinin + Kreatin)-N des Gesamt-N Proz.	Kreatininkoeffizient	Futter
3. VII.	390	0,253	640	0,0031	1,22	0,0089	—	3,56	11,0	Hafer und Rüben
5. VII.	385	0,270	690	0,0037	1,37	0,0083	—	3,07	10,5	
7. VII.	385	0,230	590	0,0031	1,34	0,0076	—	3,30	10,0	
9. VII.	380	0,270	715	0,0037	1,37	0,0083	—	3,07	10,5	
11. VII.	380	0,238	695	0,0037	1,54	0,0091	—	3,79	11,5	Hafer u. *autoklavisierte* Rüben (Skorbut)
13. VII.	380	0,270	710	0,0049	1,81	0,0097	—	3,59	12,5	
15. VII.	380	0,250	650	0,0056	2,24	0,0100	—	4,00	12,5	
17. VII.	380	0,250	655	0,0063	2,52	0,0083	0,0051	5,36	17,5	
19. VII.	360	0,330	910	0,0059	1,78	0,0091	0,0063	4,66	21,0	
21. VII.	350	0,270	770	0,0068	2,51	0,0110	0,0091	7,44	28,5	
23. VII.	310	0,300	960	0,0072	2,40	0,0129	0,0086	7,16	35,5	
25. VII.	290	0,230	805	0,0070	3,04	0,0110	0,0093	8,82	44,0	Tot am 25. VII.

Wir ersehen hieraus, daß der Skorbut einen bestimmten Einfluß auf die Ausscheidung des Kreatins und Kreatinins ausübt. In unseren vorherigen Arbeiten haben wir schon zu wiederholten Malen[1]) auf den innigen Zusammenhang zwischen Harnkreatin und Muskelkreatin hingewiesen bzw. darauf, daß das Auftreten des Kreatins im Harn fast immer durch gesteigerte Bildung von Muskelkreatin bedingt wird. Es wäre deshalb von Interesse aufzuklären, welchen Einfluß der Skorbut auf den Kreatinumsatz in den Muskeln entfaltet; ob auch in diesen Fällen eine vermehrte Bildung von Muskelkreatin stattfindet, ob der Gehalt der Muskeln an Kreatin beim Skorbut erhöht wird oder nicht.

Wir sind nun an diese Frage experimentell herangetreten. Natürlich können Veränderungen im Kreatingehalt der Muskeln nur dann mit Sicherheit ermittelt werden, wenn sich nachweisen läßt, daß er im normalen Meerschweinchen eine annähernd konstante Größe darstellt, wie dies beim Kaninchen der Fall ist. Einer von uns (*Palladin*) hat schon früher einmal den Kreatingehalt in den Muskeln erwachsener Meerschweinchen einer näheren Bestimmung unterzogen. Es wurden damals 0,352 bis 0,375 Proz., also durchschnittlich 0,361 Proz. Kreatin gefunden. Der normale Kreatingehalt der Meerschweinchenmuskulatur bewegt sich also in ziemlich engen Grenzen.

Um uns hiervon nochmals zu überzeugen, machten wir zunächst wiederholte Bestimmungen des Kreatingehaltes in den Muskeln von Meerschweinchen bei normalem Futter (Hafer und Rüben).

Die Bestimmung des Kreatingehaltes normaler und skorbutischer Meerschweinchen vollzog sich nach dem von uns schon früher (in der Arbeit über den Einfluß der Kälte auf den Kreatinumsatz in den Muskeln) ausführlich beschriebenen Verfahren[2]).

Die Resultate bezüglich der Muskeln normaler Meerschweinchen sind auf Tabelle XIII wiedergegeben.

Tabelle XIII.

Körpergewicht g	Kreatingehalt in Muskeln Proz.
420	0,369
470	0,380
400	0,364
500	0,360
550	0,364
Durchschnittlich	**0,369**

Wie ersichtlich, fanden wir den *normalen Kreatingehalt der Muskeln im Mittel gleich 0,369 Proz.*; das ist fast genau dieselbe Größe, die

[1]) Vgl. z. B. diese Zeitschr. **133**, 89, 1922.
[2]) *A. Palladin* und *A. Kudrjawzewa*, ebendaselbst **133**, 89, 1922.

früher ermittelt war. Gleichzeitig überzeugten wir uns davon, daß die Schwankungen im Kreatingehalt der Muskeln in der Norm nur gering sind, daß folglich, wenn der Skorbut einen Einfluß auf den Kreatingehalt in den Muskeln ausübe, es möglich sein würde, dies nachzuweisen.

Daraufhin wurde von uns eine Reihe von Bestimmungen des Kreatingehaltes in den Muskeln skorbutischer Meerschweinchen ausgeführt, und zwar wurden die Tiere zwecks Erlangung eines genaueren Einblicks in verschiedenen Phasen der Erkrankung getötet[1]). Es ergab sich, daß beim Skorbut der Kreatingehalt der Meerschweinchenmuskeln immer erhöht ist. Tabelle XIV gibt die Resultate aller dieser Bestimmungen wieder.

Tabelle XIV.

Kreatingehalt in den Muskeln von skorbutischen Meerschweinchen.

Nummer der Meerschweinchen	Körpergewicht der Meerschweinchen		Am wievielten Skorbuttag war das Meerschweinchen getötet und Muskelkreatin bestimmt	Kreatingehalt in den Muskeln
	anfangs g	Ende g		Proz.
17	370	300	7.	0,408
18	350	290	7.	0,380
19	580	410	10.	0,433
20	500	390	15.	0,433
21	510	395	16.	0,442
2	528	300	17.	0,445
10	410	300	18.	0,453
11	400	300	18.	0,463
22	490	310	18.	0,416
23	420	293	19.	0,464
1	500	300	20.	0,453
6	660	420	25.	0,496
24	700	510	30.	0,496
25	400	300	33.	0,508
26	590	450	39.	0,504

Aus der Tabelle geht hervor, daß *der Kreatingehalt der Muskeln desto größer ausfällt, je später nach dem Auftreten des Skorbuts die Bestimmung vorgenommen wird.* Die Differenz mit der Norm verglichen, ist so bedeutend, daß von irgendwelchen individuellen Schwankungen gar keine Rede sein kann. Die Ursache für die Erhöhung des Kreatingehaltes der Muskeln kann nur im Skorbut erblickt werden.

Der Skorbut übt einen durchaus anderen Einfluß auf den Kreatingehalt der Muskeln der Meerschweinchen aus als der einfache Hungerzustand.

[1]) Die Bestimmungen wurden zum Teil an den Muskeln derselben Meerschweinchen ausgeführt, an denen die Ausscheidung der Produkte des Stickstoffumsatzes ermittelt wurde, teils wurden aber auch Meerschweinchen speziell für diese Bestimmungen auf vitaminfreie Kost gesetzt.

Im Hunger wird der Kreatingehalt in den Meerschweinchenmuskeln, nach den Resultaten von *Alexander Palladin*, zuerst erhöht, aber in der Folge vermindert, so daß er am sechsten bis achten Hungertage 0,223 bis 0,239 Proz. beträgt (anstatt der normalen 0,360 Proz.). Ganz das nämliche fanden *Dorner*, *Myers* und *Fine* bei Kaninchen, und *Howe* und *Hawk* an Hunden.

Beim Skorbut wird infolge des Vitaminhungers der Kreatingehalt der Muskeln die ganze Zeit hindurch erhöht, je länger desto mehr, und so fort bis zum tödlichen Ende der Krankheit.

Myers und *Fine* stellten an Meerschweinchen, Hunden und Menschen fest, daß zwischen dem Kreatingehalt der Muskeln und dem Kreatininkoeffizienten eine direkte Abhängigkeit besteht. *Alexander Palladin* bestätigte an Meerschweinchen und weißen Ratten das Vorhandensein einer solchen Abhängigkeit. Nach den erhaltenen Resultaten ist der Kreatininkoeffizient desto größer, je höher der Kreatingehalt in den Muskeln des betreffenden Tieres ist, wie dies aus Tabelle XV ersichtlich ist.

Tabelle XV.

	Kreatingehalt in den Muskeln Proz.	Kreatinin-koeffizient
Kaninchen	0,52	14,3
Weiße Ratten	0,47	13,5
Mensch	0,39	9,0
Hunde	0,37	8,4
Meerschweinchen	0,36	7,8

Die oben dargelegten Bestimmungen des Gehalts an Muskelkreatin und des Kreatininkoeffizienten bei skorbutischen Meerschweinchen bestätigen abermals das Vorhandensein dieser Abhängigkeit, die einen der augenfälligsten Beweise für die Existenz eines direkten Zusammenhanges zwischen Muskelkreatin und Harnkreatin bzw. Kreatinin darstellt.

Wie wir soeben gesehen haben, vergrößert sich beim Skorbut sowohl der Kreatininkoeffizient als auch der Kreatingehalt der Muskeln. Wenn wir diese zwei Momente in Gestalt von Kurven darstellen (siehe Abb. 2), so wird der Zusammenhang zwischen ihnen zweifellos klar: Die Kurve des Kreatininkoeffizienten erhebt sich beinahe parallel der Kurve des Kreatingehaltes in den Muskeln. Auf diese Weise ergeben die Beobachtungen des Kreatininumsatzes bei experimentellem Skorbut einen neuen Beweis für die endogene Herkunft des Harnkreatins und Kreatinins aus dem Muskelkreatin.

Fassen wir alles oben Auseinandergesetzte zusammen, so läßt sich behaupten, daß der Skorbut bei Meerschweinchen eine scharf ausgesprochene Störung des Kreatinumsatzes hervorruft. Infolge Abwesenheit des antiskorbutischen Vitamins C in der Nahrung werden die mit der Bildung des Kreatins verknüpften Zerfallsprozesse in den Muskeln verstärkt, was sich auch in der Erhöhung des Kreatingehaltes in den Muskeln kundgibt; je länger der Fortfall des Vitamins C aus der Nahrung andauert, desto mehr Kreatin wird in den Muskeln gebildet, desto reicher werden sie an Kreatin. Als unausbleibliche Folge hiervon erscheint Kreatin im Harn, und nach Maßgabe des Verlaufs des Skorbuts wird ein immer größerer Teil des Harnstickstoffs in Gestalt von Krea-

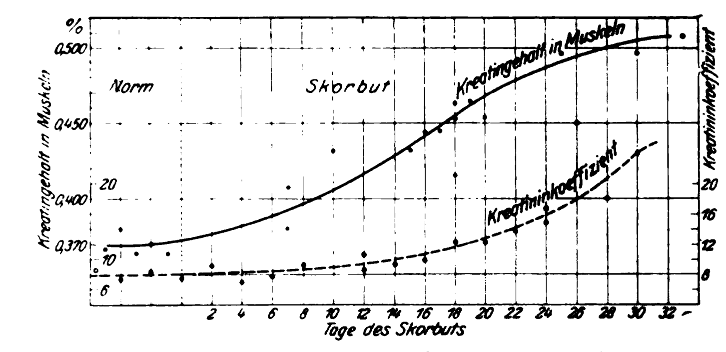


Abb. 2. Die obere Kurve zeigt den *Kreatingehalt* in Muskeln, die untere den *Kreatininkoeffizienten* beim Meerschweinchen in normalem und skorbutischem Zustand. Links auf der Ordinatenachse sind die Ziffern des prozentischen Kreatingehaltes in den Muskeln von in verschiedenen Momenten des Skorbuts getöteten Meerschweinchen eingetragen; rechts Ziffern des Kreatininkoeffizienten. Die Kurve des Kreatininkoeffizienten stellt das Mittel aus den Resultaten der Versuchsreihe dar. Auf der Abscissenachse die Versuchstage.

tinin- und Kreatinstickstoff ausgeschieden. Bei der Untersuchung des Kohlehydratstoffwechsels haben wir gesehen, daß die diesbezüglichen Prozesse während des Skorbuts eine Störung erleiden; der Organismus der Meerschweinchen unterliegt einem Kohlehydrathunger, denn die Fähigkeit seiner Gewebe, bezüglich Ausnutzung der Kohlehydrate, ist herabgesetzt. Es ist möglich, daß diese Störung des Kohlehydratstoffwechsels auch die Störung des normalen Kreatinstoffwechsels nach sich zieht. Erhielten wir doch bei der Untersuchung des Kreatinstoffwechsels zu wiederholten Malen Hinweise darauf, daß ein Zusammenhang zwischen Kohlehydrat- und Kreatinstoffwechsel besteht, und daß die Ausscheidung des Kreatins von einem (auf diesen oder jenen Ursachen beruhenden) Mangel des Organismus an Kohlehydraten abhängen kann.

Zusammenfassung.

1. Der experimentelle Skorbut, hervorgerufen durch Entziehung des antiskorbutischen Vitamins C, alteriert beim Meerschweinchen den Stickstoffumsatz.

2. Der Skorbut bewirkt (möglicherweise indirekt infolge Störung des Kohlehydratumsatzes) eine Veränderung im normalen Verlauf der Kreatinbildung in den Muskeln, infolgedessen der Kreatingehalt in den Muskeln erhöht wird.

3. Beim Skorbut erscheint im Harn Kreatin, dessen Ausscheidung im Verlauf der Krankheit beständig zunimmt.

4. Die Zunahme des Kreatingehaltes in den Muskeln und die Vergrößerung des Kreatinkoeffizienten gehen im Verlauf des Skorbuts einander parallel.

5. Der Skorbut hat eine relative Vermehrung der Ammoniakausscheidung zur Folge.

Über die hormonale Bedeutung des Ammoniaks.

Der Antagonismus und Synergismus zwischen den Ionen des Ammoniums und des Magnesiums im Organismus.

Von

W. W. Prăwdicz-Neminski.

(Aus dem mikrobiologischen Institut der ukrainischen Akademie der Wissenschaften, Kiew.)

(Eingegangen am 14. August 1924.)

I.

Zur Frage nach dem Antagonismus zwischen den $(NH_4)^{\cdot}$- und $Mg^{\cdot\cdot}$- (und $Ca^{\cdot\cdot}$-) Ionen im Organismus kommen wir aus der Betrachtung der Ursachen, welche die periodischen Bewegungen des leeren Magen-Darmkanals veranlassen.

Diese Bewegungen wurden im Laboratorium von *Pawlow* [*Schirockich*[1]), *Tcheschkow*[2])] entdeckt und von *Boldyrew*[3]) (1904) näher studiert. *Boldyrew* bemerkte bei diesen Bewegungen eine gleichzeitige Absonderung einer bedeutenden Menge von Verdauungssäften (beim Menschen ungefähr von 60 ccm einmalig bis zu 400 ccm täglich von Sekreten der Darmdrüsen, des Pankreas, der Leber); der Magen sondert in dieser Zeit einen Schleim von alkalischer Reaktion ab. *Boldyrew* sah die Zweckmäßigkeit der periodischen Bewegungen in der Verteilung der Säfte, die sich in die einsaugende Darmfläche ergießen. Durch das Blut erreichen die Fermente dieser Sekrete die einzelnen Zellen (in der zymogenen Form), wo sie die Reaktionen der Synthese und der Zerlegung ausführen.

Es schien daher von Interesse, die Ursachen dieser (periodischen) Bewegungen des Magen-Darmkanals aufzuklären.

Aus den Arbeiten von *Zalesky*, *Nentzki* und *Pawlow*[4]) ist bekannt, daß das aus dem Verdauungskanal fließende Blut viel reicher an NH_3 ist als das Arterialblut. Nach *Horodynski*, *Salaskin*, *Zalessky*[5]) enthält

---

[1]) *Schirockich*, Tageb. d. XI. Vers. d. russ. Ärzte u. Naturf. 1901 (russisch).

[2]) *Tscheschkow*, Dissertation 1902 (russisch).

[3]) *Boldyrew*, Dissertation 1904; ferner eine Mitteilung in „Russische Ärzte" 1914; Ergebnisse der Physiologie 1911.

[4]) *Zalessky*, *Nentzki*, *Pawlow*, Arch. d. biol. Wissensch. **4**, 1896; Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 87, 26, 1896.

[5]) *Horodynski*, *Salaskin*, *Zalesky*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, **1903**.

das Blut der Vena portae 4,5mal mehr NH_3 als das Arterialblut (in 100 g Venenblut 1,85 mg NH_3, Arterialblut 0,41 mg). Während der Verdauung vergrößert sich der Gehalt an NH_3 in der Schleimhaut. Es war auch bekannt, daß *Riazantzew*[1]) den Zerfall des Eiweißes und die Bildung von NH_3 in der Schleimhaut durch die Wirkung der Verdauungsdrüsen festgestellt hat. Außerdem haben eine Reihe von Forschern [*Jaworski*, *Vatzuda*, *Pfungen-Ullmann*, *Schütz*, *Alexandrowski*, *Serdückow*, *Katznelson*, *Edelmann*[2])] eine Verbesserung der motorischen Aktivität des Magens bei der Aufnahme alkalischer Flüssigkeiten (0,3 Proz. Soda) und Wasser (Karlsbad. Mühlbrunnen, Kissingen. Rakotzy, Essentuki Nr. 17) beobachtet. Die Versuche, alkalische Flüssigkeiten in den Magen der mit Fisteln versehenen Hunde einzuführen, wurden auch in anderen Laboratorien gemacht. Auf Grund vorliegender zusammengestellter Tatsachen bin ich zu der Ansicht gekommen, daß die bei der Sekretion gebildeten Ammoniakverbindungen die Bewegungen des Magen-Darmkanals verursachen können. Es wurden Versuche an Hunden mit einer chronischen Magenfistel ausgeführt (Methodik der Schule *Pawlow*), die das Entstehen *starker* Bewegungen des Magens bei Einführung *unbedeutender* Quantitäten von Ammoniak enthaltenden Flüssigkeiten (NH_4OH, NH_4Cl) bestätigten.

Einführung von Ammoniumhydroxyd. Angewandt wurde eine schwache Lösung, die 13,5 mg NH_3 in 80 ccm H_2O (= n/100 NH_4OH) enthielt. Gewöhnlich entstanden schon nach 1 bis 3 Minuten *Reaktionsbewegungen* (4 bis 11 in der Minute) von gleicher Größe, oder, was öfter geschah, diese Bewegungen übertrafen die der normalen Periode. In einem Teile der Versuche wurden nach den Reaktionsbewegungen rhythmische Bewegungen beobachtet, die an die periodischen erinnerten. Wir wollen sie „*Extraperioden*" nennen. Die Extraperioden (unsere Terminologie) wurden zum erstenmal bei *Edelmann* (l. c.) aufgeführt. Die folgende normale Periode entsteht bei größeren Bewegungen, denen oft eine bedeutende Vergrößerung der Amplitude folgt. Im Vergleich mit der Norm tritt sie für gewöhnlich verspätet auf. Das gibt uns die Möglichkeit anzunehmen, daß nach der Wirkung dieses alkalischen Stoffes ein *refraktärer* Zustand des Magens anfängt für den nächsten normalen Impuls der folgenden Periode. Die Reaktionsbewegungen sind den „Säure"bewegungen sehr ähnlich. Da die Hypersekretion von einer vergrößerten Aktivität der Magendrüsen unter Bildung von NH_3 begleitet wird, so hielten wir es für möglich, im Ammoniak die Ursache (d. h. *eine der möglichen*

[1]) *Riazantzew*, Arch. f. biol. Wiss. 4, 391.
[2]) *Edelmann*, Dissertation 1906 (russisch).

Ursachen) dieser Bewegungen zu erkennen[1]). Es besteht nämlich eine Abhängigkeit zwischen der Absonderung von HCl im Magen und der Ausscheidung von NH_3 im Harn, was *Gammeltoft*[2]) festgestellt hat.

Einführung von Ammoniumchlorid. Lösungen von 0,535, 1,07, 4,28 Proz. wurden angewandt. Die Einführung der ersten Lösung (in der Quantität von 50 ccm und mehr) erzeugt Reaktionsbewegungen oder Extraperioden oder auch beide zusammen. Dabei wird eine Antiperistaltik mit dem Aufwerfen der Galle in den Magen bemerkt. Bei der Einführung der 4,28proz. Lösung (in der Quantität von 50 bis zu 150 ccm) zeigten sich schon nach 8 bis 12 Minuten antiperistaltische Erscheinungen, wie z. B. Übelkeit, Erbrechen, oder eine große Erregbarkeit des Tieres bei einem sehr starken Erbrechen. Die Brechmassen waren von der Galle gefärbt. Diese Versuche fordern eine Nachprüfung der Angaben von *Hallervorden*, die in folgendem Satze gipfeln: „Eine erregende Wirkung der Ammoniumsalze bei der Aufnahme in den Magen ist ganz ausgeschlossen.“ (Pharmakologie, *Krawkow* u. a.). Bei *schwachen* Lösungen[3]) tritt die nachfolgende Periode verspätet auf — die refraktäre Verspätung —, überdies zeigt „*das Intervall des Rhythmus*“ (d. h. die Zeit des Erscheinens der nachfolgenden normalen Periode) eine Neigung, sich der doppelten Größe zu nähern. Man bemerkt eine gewisse Gesetzmäßigkeit in der Aufrechterhaltung der Periodizität des Magen-Darmkanals bei dieser chemischen Reizung. Die Versuche mit NH_4Cl haben die Voraussetzung bestätigt, daß der Effekt nicht nur von dem Hydroxyl abhängig ist wie in anderen alkalischen Flüssigkeiten, sondern auch von dem Kation $(NH_4)^{\cdot}$. Aus dem vorher Erörterten ziehen wir die Folgerung, welche fernerhin bestätigt wird, nämlich: die Arbeitsbewegungen des Magens (auch die „Säure“bewegungen) können von NH_3 bedingt werden, das sich während der Sekretion der Magendrüsen bildet. Durch die Aktivität der *Darmdrüsen* (bzw. durch die Bildung der stickstoffhaltigen Zersetzungsprodukte mit Ammoniak zusammen) kann man die Bewegungen des Darmes (lokaler Einfluß), sowie auch die Bewegungen des Magens (die reflektorisch seitens des Darmes sind) erklären. Die oben ausgesprochene Meinung, daß das NH_3, das sich während der Sekretion der Drüsen bildet, der normale physiologische Erreger der Magenbewegungen ist, findet Bestätigungen, wie ersichtlich, in den Versuchen von *Bykow* und *Sawitsch*[4]), die

[1]) Theoretisch ist die Möglichkeit der gleichzeitigen Wirkung der HCl mit dem Entfernen von $Mg^{\cdot\cdot}$ (und $Ca^{\cdot\cdot}$) aus den organischen Verbindungen des Protoplasmas nicht ausgeschlossen.

[2]) *Gammeltoft*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **75**, 1911.

[3]) Bei den hypertonischen Lösungen ändern sich die Verhältnisse.

[4]) *Bykow-Sawitsch*, Arch. f. d. biol. Wissensch. 1923, Petrograd.

zeigen, daß diese *physiologische* Sekretion unter gewissen Bedingungen (z. B. nach dem Entfernen der Glandulae parathyreoideae) Tetanie und Erbrechen hervorrufen kann. Um so leichter kann zugegeben werden, *daß das Ammoniak, das sich* physiologisch *während des Prozesses der Sekretion bildet* (*Zalessky*, *Nentzki*, *Pawlow*, *Riazantzew*), an den rhythmischen Bewegungen *des Magen-Darmkanals* teilnimmt. *Gleichzeitig mit NH_3 ist es immer nötig, die Möglichkeit der Wirkung anderer Hormone anzunehmen* (Derivate derselben usw.), im einzelnen auch in den Fragen über die Ursache der periodischen Bewegungen des Magens und Darmes.

Hier müssen wir uns an die Ansicht von *Loeb* (l. c.) erinnern, der von der Bedeutung der Kohlensäure schreibt, die während der Arbeit der Muskeln entsteht und das *Calcium* aus seinen Verbindungen an sich zieht. Diese Bedeutung definiert der Forscher mit folgenden Worten: „Die Kohlensäure, die sich unaufhörlich im Körper bildet, spielt eine hervorragende Rolle bei der Entstehung der rhythmischen Zuckungen."

Wir wollen unsere Vermutung folgendermaßen ausdrücken: Das Ammoniak, das sich *im Herzen während der Zuckung bildet*, hat eine Bedeutung (dieselbe wie CO_2 nach *Loeb*) *für die Entfernung von „Ca" und auch von Mg*[1]).

Schließlich spricht selbst die Lage der Knoten *Keith-Flacks* an der Vereinigung der Vena cava superior mit dem rechten Vorhof des Herzens für die Möglichkeit der Einwirkung der stickstoffhaltigen Zerfallsprodukte seitens des venösen Blutes und stellt die Veränderung des Tones und des Rhythmus des Herzens in Abhängigkeit von den Arbeitsprozessen, welche auf den Wegen der Vena cava superior stattfinden (in den Muskeln der oberen Extremitäten, im Gehirn, in den Gl. parathyreoideae, Schild- und Thymusdrüsen). *Selenin*[2]) schreibt: „Wir können nicht den *einfachen Zufall* als Tatsache hinstellen, daß das hauptsächliche regulatorische Zentrum des Herzens an der *Wurzel des venösen S*ystems liegt." Hier zeigt er uns, daß *Hirth* den ganzen Mechanismus des Herzens mit der wechselseitigen Wirkung der Ionen erklärt, und stellt eine neue Lehre auf: „Vom elektrochemischen Betrieb", Elektrolytenkreislauf usw.

Wie kann man die chemische Wirkung von (NH_4) auf das lebendige Gewebe erklären?

Da wir wissen, daß die Gewebe (besonders die Muskelgewebe) $Mg^{\cdot\cdot}$ und K_2HPO_4 enthalten, kann man sich vorstellen, daß $(NH_4)^{\cdot}$ folgendermaßen reagiert: $NH_4OH + Mg^{\cdot\cdot}X_2 + K_2HPO_4 = 2KX$

[1]) Siehe auch weiter über die Bedeutung von CO_2 und NH_3.

[2]) *Selenin*, Die Krankheiten des Herzens usw., 1915 (russisch); *Hirth*, Unser Herz — ein elektrisches Organ (nach *Selenin*).

$+ (NH_4)^{\cdot} Mg^{\cdot\cdot} PO_4 + H_2O$ unter Ausscheidung des kristallinischen Ammonium-Magnesiumphosphats (Tripelphosphat). Es schien möglich, das $Ca^{\cdot\cdot}$ zu entfernen in Gegenwart von Kohlensäure. Auf diese Erwägungen gestützt, werden wir uns der Sichtung der Literatur zuwenden, die sich mit der Wirkung von NH_3 auf die Gewebe beschäftigt. In einem kleinen, bedauerlicherweise nur wenig bekannten Werke von *Hürtle*[1]) finden wir eine Bestätigung des vorher Gesagten. *Hürtle* bemerkte, während er die Muskeln (und die Nerven) eines Frosches mit NH_3 behandelte, eine kristallinische Substanz (nach Beendigung der Fibrillarverkürzungen). Diese Substanz wurde aus dem Muskelgewebe mit Hilfe von Essigsäure von *Ahrens* isoliert. Die Analyse ergab folgende Formel: $Mg^{\cdot\cdot} . (NH_4)^{\cdot} . PO_4 + 6 H_2O$. So finden wir in der Literatur die Bestätigung unserer Annahme, daß das Ammonium aus dem Zellkörper das Magnesium verdrängt; ferner auch eine Bestätigung unserer Voraussetzung über die Bildung des dabei entstehenden Phosphats (die Absonderung einer kleinen Quantität von $Ca^{\cdot\cdot}$ wurde auch bemerkt).

Die Annahme des Vorhandenseins eines Antagonismus zwischen $(NH_4)^{\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ *hat uns genötigt, hier das allgemein-biologische* Gesetz von Loeb *anzuwenden.*

Loeb hat den Gedanken entwickelt, daß sich gleichzeitig mit dem Aufhören der Beständigkeit in dem Verhältnis der Konzentration der einwertigen und zweiwertigen Kationen im Zellenkörper

$$\left(\frac{\text{Konz. } K'}{\text{Konz. } K''} = \text{konst}\right)$$

die Erregbarkeit des lebenden Gewebes (mit „*K*" werden die Kationen bezeichnet) ändert.

So erhöht sich z. B. mit der Vermehrung der einwertigen Kationen ($Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$) oder mit der Verminderung der zweiwertigen Metallionen ($Ca^{\cdot\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$) die Erregbarkeit des Gewebes, was unter bestimmten Bedingungen zur Steigerung der Reizbarkeit und zur Reizung führt.

Die Versuche über die Abscheidung des $Ca^{\cdot\cdot}$ mit Hilfe der Phosphate, Oxalate, Citrate, Sulfate, Tartrate bestätigen den Gedanken *Loebs*[2]). Indem *Loeb* ganz deutlich die Abhängigkeit der Eigenschaften der normalen tierischen Gewebe von dem ganz *bestimmten* wechselseitigen Verhältnis $Na^{\cdot}(K^{\cdot})$ und $Ca^{\cdot\cdot}$ zueinander zeigt, erwähnt er nur bedingungsweise $Mg^{\cdot\cdot}$ „*und vielleicht das Magnesium*" und schließt (NH_4) ganz (in den ersten Arbeiten) aus. Jedoch all das oben Erwähnte

[1]) *Hürtle*, Pflügers Arch. **100**, 451.

[2]) Uns liegen auch die Untersuchungen anderer Autoren über die Bedeutung des $Ca^{\cdot\cdot}$ vor: *Chiari*, *Chiari-Januschke*, *Chiari-Frölich*, *Dixon*, *Januschke*, *Koch*. Der letzte Autor entdeckte nach der Aufnahme der Oxalsäure in den breiigen Auswürfen das kristallinische Calciumoxalat.

und die chemische Analyse von *Hürtle-Ahrens* geben uns die Möglichkeit, den Koeffizienten *Loebs* zur Erklärung der wechselseitigen Wirkung von $(NH_4)^{\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ zu benutzen; aber das Aufhören der Beständigkeit im Verhältnis der *Loeb*schen Formel wird durch $(NH_4)^{\cdot}$ erreicht. Diese Wirkung kann man als eine kombinierte aus der ursprünglichen Wirkung betrachten, durch Vermehrung der Zahl der additiv wirkenden Kationen $(NH_4)^{\cdot}$ im Zähler und der abermaligen Wirkung durch Verminderung der Zahl der Kationen $Mg^{\cdot\cdot}$ im Nenner. Die beiden Wirkungen führen zur Vergrößerung des Verhältnisses, und wenn sie mit genügender Schnelligkeit vollbracht werden, rufen sie die Erscheinungen der Erregung hervor. *Eine Bedeutung für den „Antagonismus" gewinnt in diesem Beispiele die chemische Erklärung der Bildung des Doppelphosphats.*

Zugunsten der oben angeführten Erwägung, daß die Wirkung von NH_4OH erstens von $(NH_4)^{\cdot}$ abhängt und außerdem vielleicht von $(OH)'$, spricht der unermeßlich große Effekt, welchen dieser Stoff erzeugt im Vergleich mit NaOH, KOH usw., obgleich diese starken Laugen bedeutend mehr in wässeriger Lösung elektrolytisch dissoziiert werden (0,1 Äquivalent einer Lösung zu 86 Proz.) als NH_4OH (gleich 1,5 Proz.). Letzteres bezieht sich nur auf die *schwachen* oder mittleren (nach *W. Ostwald*) Laugen. *So erweist sich die Wirkung auf die Magenbewegung umgekehrt proportional der elektrolytischen Dissoziation dieser Laugen.* Eine derartige Wirkung wurde empirisch von *Barrat*[1]) in dem Versuche mit Paramaecia aurelia festgestellt. Für die Bakterien haben wir analoge Versuchsergebnisse. Es gibt *eine allgemeine biologische Legalität* in den Wirkungen auf die lebensfähigen Elemente der vielzelligen und einzelligen Organismen. Wir haben eine Erklärung dafür in der Bildung des Doppelphosphats bzw. in dem Magnesiumverlust[2]).

Den besonderen Effekt von NH_4OH *nur durch* eine größere Löslichkeit seiner undissoziierten Moleküle in den Zellenlipoiden zu erklären, ist schwer, besonders wenn man sich an die unbedingte Tatsache der Ausscheidung des Doppelphosphats erinnert. Endlich erscheint die Hypothese über die Lipoidnatur der Plasmahäute, wie

[1]) Die Kulturen dieser Paramaeciae blieben sogar nach 24 Stunden in den 0,001 n Lösungen eines Kalium- oder Natriumhydrats lebendig, in einer gleich starken Lösung von NH_4OH starben sie nach 2 Minuten ab. *Barrat*, Zeitschr. f. allgem. Physiol. 4, 1904.

[2]) Das Hydroxyl der Lauge kann wahrscheinlich das $Mg^{\cdot\cdot}$ als $Mg(OH)_2$ binden. Doch der bedeutende Effekt hängt nicht vom Hydroxyl ab, was man aus der geringen elektrolytischen Dissoziation dieser Substanz (NH_4OH) sieht.

gezeigt worden ist, in der letzten Zeit als „eine übermäßige Überschätzung einiger Tatsachen" [*Uspenski*[1])].

Wenn wir die Bedeutung der Kationen $(NH_4)^{\cdot}$ im Organismus ermessen wollen, so müssen wir annehmen, daß sie viel größer ist, als man es gewöhnlich glaubt. So schreibt *Loeb* (in seiner „Dynamik", S. 135, russische Übersetzung): Wir können die Wirkung der NH_4- (und Li-) Salze nicht untersuchen, weil sie sich nicht unter den Bestandteilen der Muskelsubstanz befinden. Doch auf Grund der Untersuchungen von *Horodynski*, *Salaskin*, *Zalesski* (l. c.) befinden sich in den Muskeln des normalen Hundes auf 100 g Substanz 13 mg NH_3, im Gehirn beinahe 12 mg, im Pankreas 22,09 mg, in der Leber 23,27 mg. So ist NH_3 beständig in den *verschiedenen Organen* anwesend. Weiter haben *Lee*, *Pearl*, *Taschiro*[2]) festgestellt, daß der Musculus gastrocnemius des Frosches bei jeder Kontraktion ungefähr $1 \cdot 10^{-9}$ mg NH_3 bildet und der Nerv 14 mal mehr (während der Ruhe 13 mal). *Tullio* (1912) hat gefunden, daß die Muskeln des Menschen mehr NH_3 während der Arbeit als während der Ruhe bilden. Wir haben dafür auch experimentelle Unterlagen (*Slosse*, *Schwering*). Endlich tritt die Bedeutung der stickstoffhaltigen Produkte (die sich während der physiologischen Nahrungssekretion bilden) für die Entwicklung der *Tetanie* bei den Tieren, denen die Glandulae parathyreoideae fehlen, klar aus den Arbeiten von *Bykoff* und *Savitsch*[3]) (1923) hervor.

Alle oben erwähnten Ergebnisse verpflichten uns, die Bedeutung von $(NH_4)^{\cdot}$[4]) und seine wechselseitigen Verhältnisse mit $Mg^{\cdot\cdot}$ (und $Ca^{\cdot\cdot}$) bei verschiedenen Prozessen des Organismus in Betracht zu ziehen. Oben haben wir alle diese Überlegungen benutzt, um die Ursache des Ursprungs der *rhythmischen* Prozesse zu beurteilen (in dem Ver-

---

[1]) *Uspenski*, Mitteilung in dem Sammelwerk Der Materialismus in der Naturwissenschaft. Redaktion von *Timiriaseff* (Hinweis auf Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, von *Höber*, 5. Aufl., S. 502, 1922 und *Rohde*, Untersuchungen über den Einfluß der freien H-Ionen im Innern lebender Zellen auf den Vorgang der vitalen Färbung. Pflügers Arch. **168**, 411–433, 1917).

[2]) *Lee*, *Pearl*, *Taschiro*, Amer. Journ. of Physiol. **61**, 1922 (nach dem Referat).

[3]) *Bykoff* und *Savitsch*, Arch. d. biol. Naturw. 1923.

[4]) Die Bildung von $(NH_4)^{\cdot}$ in der Magenschleimhaut geht während des tiefen Zerfalls der Eiweißstoffe vor sich. Die hydrolytische Spaltung führt möglicherweise zu Aminosäuren, aus denen sich NH_3 mit Hilfe der speziellen (desamidierten) Fermente abspaltet. Die gleichzeitig gebildete Kohlensäure gibt folgende Reaktionen:

$$1.\ CO<^{OH}_{OH} + {NH_3 \atop NH_3} = CO<^{ONH_4}_{ONH_4} = \underset{\text{Ammoniumcarbonat}}{(NH_4)_2CO_3}\ [\text{bzw. } (NH_4)HCO_3].$$

$$2.\ CO_2 + 2\,NH_3 = \underset{\text{Ammoniumcarbamat}}{CO<^{ONH_4}_{NH_2}};\ \text{oder die Mischung derselben.}$$

dauungskanal und dem Herzen). Damit wird jedoch die Bedeutung von $(NH_4)^{\cdot}$ nicht erschöpft. Es scheint uns wahrscheinlich, daß die Bildung dieser Kationen und ihr wechselseitiges Verhältnis mit $Mg^{\cdot\cdot}$ $(Ca^{\cdot\cdot})$ eine Anwendung wie für die Betrachtung der Erscheinungen der Muskelsubstanzverkürzung, so auch für das Studium des Entstehens der Erregung und ihrer Ausbreitung in dem Nervenstoff finden muß[1]).

Die Arbeiten von *Grafe*, *Grafe-Schläpfer*[2]) und anderen haben ergeben, daß im Organismus eine Synthese der Eiweißstoffe existiert, die durch die Bildung von Eiweiß aus Ammoniak und Kohlenhydraten bedingt wird.

Wenn diese Tatsache auch in den folgenden Arbeiten einem Zweifel unterworfen wurde, so ist sie doch nicht widerlegt worden. Es scheint möglich zu sein, diese Ergebnisse *als Erklärung* der *Muskelhypertrophie bei einer häufigen Arbeit zu benutzen*; außerdem könnten sie noch größere Anwendung finden.

„Wie die *Muskeln, Drüsen* und *andere* Gewebe durch häufige funktionelle Erregung an Masse zunehmen, so wissen wir aus zahlreichen Erfahrungen auch von den *Ganglienzellen* das gleiche. Durch häufig wiederkehrende Reizung wird die Masse des Protoplasmas mit seinen *Dendriten* bis zu einer bestimmten Grenze vermehrt. Jedenfalls erfährt auch die Substanz der *Neuriten* dabei eine Massenzunahme (Aktivitätshypertrophie)"[3]).

Wenn man in Betracht zieht, daß das *Ammoniak eines der beständigen Produkte des Eiweißzerfalls* der funktionellen Zelle *ist, so* müssen wir hinzufügen, daß die *Hypertrophie des Zellenkörpers bei häufiger Arbeit von den synthetischen Prozessen abhängig sein kann, die sich zwischen diesem Ammoniak und Kohlenhydraten abspielen.* Unter dieser Voraussetzung kommt dasselbe Ammoniak, das sich *als Zerfallsprodukt* der spezifischen (Eiweiß enthaltenden) erregbaren Substanz bildet und sich wellenartig durch das lebendige Gewebe ausbreitet (den Nerv oder durch die Nervenzelle) und das eine chemische Phase der Erregung hervorruft, *dasselbe* Ammoniak kommt in Verbindung mit Kohlenhydraten und *führt zu synthetischen Prozessen und zur Massenentwicklung bzw. zur Hypertrophie der Zelle.* Bei dieser Betrachtung ist das Ammoniak auch ein wirksames Agens im Prozeß der „Selbststeuerung des Stoffwechsels" nach der dissimilatorischen Erregung.

[1]) Hier werden wir nur eine Frage, *die letzte*, kurz berühren. Siehe unsere Mitteilung: *Prâwdicz-Neminski*, Zur Kenntnis der elektrischen Vorgänge in den funktionellen Elementen und den Geweben des tierischen Organismus. I.—IV. Mitteilung. (Wird demnächst erscheinen.)

[2]) *Grafe*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **109**, 1920; *Grafe-Schläpfer*, ebendaselbst **77**, 1912.

[3]) *Verworn, Max*, Die zellularphysiologischen Grundlagen des Abstraktionsprozesses. Zeitschr. f. allgem. Physiol. **14**, 279, 1913.

Gleichzeitig ergibt sich die Möglichkeit einer physiologisch-chemischen Betrachtung der Massenzunahme der Nervenzelle, die *Verworn* als Ursache des „Ausschleifens der Bahnen" im Nervensystem ansieht, durch Hypertrophie des Neurons in bestimmter Richtung des Nervennetzes: „Die Abhängigkeit der Massenentwicklung der Neurone von der funktionellen Aktivität bildet *physiologisch* die Grundlage für das „Ausschleifen der Bahnen" durch Übung, psychologisch die Grundlage des Gedächtnisses" (*Verworn*, l. c., S. 279–280).

Die Massenentwicklung des Neurons führt zu einer Massenzunahme der lebendigen entladungsfähigen Substanz.

„Zunächst ist es klar, daß mit der Erregung einer größeren Masse auch die Produktion einer stärkeren spezifischen Leistung verbunden ist. Wenn also der *dissimilatorischen Entladung* bestimmter Neurone *subjektiv ein bestimmter Bewußtseinsvorgang entspricht*, dann muß die Intensität der Bewußtseinsvorgänge von der Massenentwicklung der beteiligten Neurone abhängig sein. Assoziierte Neuronengruppen, deren einzelne Bestandteile durch Übung eine große Massenentwicklung erfahren haben, werden daher intensivere *Empfindungen*, *Vorstellungen*, *Gedanken usw.* liefern, als solche mit geringerer Entwicklung ihrer Masse" (*Verworn*, l. c., S. 280).

Die erhebliche Bedeutung der Schwankungen von unbedeutenden Quantitäten Mg¨ im Nervensystem ersieht man aus den Beobachtungen über die Schwierigkeiten der analytischen Bestimmungen während der Magnesiumnarkose. Man bemerkt, daß bei einmaliger Vergiftung mit Magnesiumsalzen die Gewichtsanalyse keine Vergrößerung des Mg¨ im Gehirn und nach der wiederholten Vergiftung auch nur in geringem Grade zeigt (*Schultz*, 1914; *Mansfeld* und *Basányi*, 1913; *Meyer-Gottlieb*, l. c., S. 34).

Gleichzeitig mit der Tatsache der schwierigen Bestimmung der Magnesiumschwingungen im Zentralnervensystem, die dem Gewicht nach sehr gering, dem Resultat nach bedeutend sind, muß man eine andere Tatsache berücksichtigen, die vor vielen Jahren bei *Charles Darwin* ein großes Erstaunen hervorgerufen hat[1]).

Nachdem *Darwin nur* eine außerordentlich kleine Menge des Ammoniaksalzes in der Lösung bestimmt hat, in derselben Lösung, welche aber die Einbiegung der Tentakeln des Blattes bei der insektenfressenden *Drosera* hervorruft, schreibt er: „Die Kleinheit der Dosen des salpetersauren und ganz besonders *des phosphorsauren Ammoniaks*, welche eine Einbiegung der Tentakeln an den eingetauchten Blättern verursacht, ist vielleicht die merkwürdigste in diesem Bande

[1]) *Ch. Darwin*, Insektenfressende Pflanzen. *Darwins* gesammelte Werke (autorisierte deutsche Ausgabe) 8, Stuttgart 1876; russische Ausgabe *Popow*, 4, 1900 (mit *Fr. Darwins* Bemerkungen).

mitgeteilte Tatsache" (l. c., deutsche Ausgabe, S. 151—152; russische Ausgabe, S. 97).

Ferner teilt er mit: „Es ist sicherlich eine äußerst überraschende Tatsache, daß $^1/_{19760000}$ eines Grans oder, in runder Zahl, *ein zwanzigmillionstel Teil* eines Grans (= 0,0000033 mg) des phosphorsauren Salzes irgend eine Pflanze oder selbst irgend ein Tier affizieren sollte[1]). Da dieses Salz 35,33 Proz. Kristallwasser enthält, so werden die wirksamen Elemente auf $^1/_{30556126}$ Gran oder, in runder Zahl, auf *ein dreißigmillionstel* Gran reduziert. Überdies war die Lösung in diesen Versuchen im Verhältnis von einem Teile des Salzes auf 2187500 Teile Wasser oder 1 Gran auf 5000 Unzen verdünnt. Der Leser wird sich vielleicht diesen Grad von Verdünnung am besten vergegenwärtigen, wenn er sich erinnert, daß 5000 Unzen mehr als *ein 31-Gallonenfaß* füllen würden, und daß zu dieser großen Masse Wasser *ein Gran* des Salzes hinzugetan wird; über ein Blatt wird dann nur eine halbe Drachme oder 30 Minims der Lösung gegossen. Und doch reichte diese Menge hin, die Einbiegung beinahe jeden Tentakels und häufig auch der Blattscheibe zu verursachen (l. c., S. 152). Ich bin mir wohl bewußt, daß diese Angabe auf den ersten Blick beinahe jedermann unglaublich erscheinen wird. *Drosera* kann, wie es sich in den Bewegungen ihrer Blätter zeigt, eine *sehr viel kleinere Quantität des phosphorsauren Ammoniaks entdecken, als der geschickteste Chemiker* es von irgend einer Substanz kann" (l. c., S. 152—153).

(Es ist bemerkenswert, daß die gewichtsanalytische Bestimmung kleinster *Magnesiummengen* im Gehirn bei Magnesiumvergiftung auch anderen Forschern Schwierigkeiten verursacht hat.)

„Meine Resultate waren eine lange Zeit mir selbst unglaublich und ich suchte ängstlich nach jeder Fehlerquelle. Das Salz wurde in einigen Fällen von einem Chemiker auf einer ausgezeichneten Wage für mich abgewogen, und frisches Wasser wurde viele Male mit Sorgfalt abgemessen. Die Beobachtungen wurden während mehrerer Jahre wiederholt. Zwei meiner Söhne, welche so ungläubig wie ich selbst waren, verglichen mehrere Gruppen von Blättern, welche gleichzeitig in die schwächeren Lösungen und in Wasser eingetaucht wurden, miteinander und erklärten, es könne über die Verschiedenheit ihrer äußeren Erscheinungen gar kein Zweifel bestehen" (S. 152—153).

Dieses Faktum, das den geistreichen Forscher so erstaunt hat und auf das er mehrmals auch nach dem Jahre 1872 nachprüfend zurückkam, findet einen Platz innerhalb der Grenzen *unserer Hypothese* über

---

[1]) *Darwin* teilt mit, daß sein Sohn *George Darwin* für ihn den Durchmesser einer Kugel von phosphorsaurem Ammoniak berechnet hat, die den zwanzigmillionten Teil eines Grans wiegt und ihn $^1/_{1644}$ Zoll lang gefunden hat (l. c., deutsche Ausgabe, S. 155).

die Bedeutung der Ausscheidung des Ammonium-Magnesiumphosphats bei der Wirkung der Ammoniaksalze auf den Organismus.

Diese Wirkung (s. oben) führt zur Entfernung des Magnesiums (und vielleicht des $Ca^{\cdot\cdot}$) aus dem Zellenkörper, zur Störung des Gleichgewichts der Kationen im Organismus und (nach dem Gesetz von *Loeb*) zu den Erscheinungen der Erregung im Protoplasma. Gleichzeitig mit dieser *chemischen* Reaktion (und anderen) geht *die Veränderung des physikalischen Zustandes* des Protoplasmas einher.

Den Vorteil der Wirkung der Ammoniaksalze vor den Salzen mit *anderen* Kationen kann man auch als eine Fähigkeit des Ammoniakkations, das Magnesium (in Gegenwart der Anionen der Phosphorsäure) zu binden, erklären. Der vorherrschende Effekt, gerade von Ammoniumphosphat, verglichen mit Ammoniumnitrat, Ammoniumcarbonat und anderen Ammoniaksalzen, ist auch verständlich, weil zur Bildung des Doppelphosphats *von außen* nicht nur Ammoniak, *sondern auch das Anion* der Phosphorsäure zugeführt wird.

Man müßte diese Versuche wiederholen, um die Kristalle des Doppelphosphats zu entdecken; doch könnten sich Schwierigkeiten ergeben, weil man bei der Wirkung der Ammoniaksalze die Erscheinungen der sogenannten „Aggregation" in den Zellen beobachten kann. Wir werden uns nicht bei der Frage aufhalten, was diese Aggregationen vorstellen, wir wollen nur bemerken, daß *de Frise* (Biochem. Zeitung 1866, S. 1) der Ansicht ist[1], daß die Form der Aggregation, die das Ammoniumcarbonat hervorruft, sich wesentlich von der gewöhnlichen Aggregation unterscheidet, z. B. von der, die von Fleisch hervorgerufen wird. Er meint, daß die *erste Aggregation vom Niederschlag der Eiweißstoffe abhängt.* Auch *Glawer* (Jahresbericht d. Schl. Ges. f. vaterländ. Kultur, 1887) findet einen Unterschied zwischen der gewöhnlichen und ammoniakalischen Aggregation.

Es handelt sich nun darum, die Wirkungen *verschiedener Ammoniaksalze* bei verschiedenen *Konzentrationen* auf die Protoplastenkolloide *vergleichend* zu studieren; es ist in höchstem Grade notwendig, die *Abhängigkeit zwischen der Entfernung* des Magnesiums und *der Koagulation* bei der Wirkung der Ammoniaksalze bzw. $(NH_4)^{\cdot}$ festzustellen.

Der Antagonismus zwischen $(NH_4)^{\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ in den Muskelorganen.

Von dem Satze ausgehend, daß die Zerstörungserscheinungen des lebendigen Gewebes durch NH_3 von der Entfernung des $Mg^{\cdot\cdot}$ abhängen (wie die Zerstörung durch die Oxalate von der Entfernung des $Ca^{\cdot\cdot}$ abhängt), machten wir Beobachtungen über die Wirkung des Ammoniumhydroxyds (etwa 0,17 Proz.) bzw. des gasförmigen NH_3, mit darauffolgender Anwendung von Magnesiumchlorid auf die Muskulatur des Skeletts und auf den Magen und den Dünndarm des Frosches.

[1]) Wie man es aus den Bemerkungen von *Fr. Darwin* ersieht (l. c., S. 28, russische Ausgabe).

In Kürze[1]) werden wir hier zeigen, daß die Starre, durch NH_3 hervorgerufen, ganz oder in bedeutender Weise durch die Wirkung des Magnesiumchlorids (1,5 Proz. und andere) gemindert werden kann. (Die Kontrollversuche mit der physiologischen Lösung gaben entweder gar keine Lähmung oder nur eine geringe teilweise.)

Solch einen günstigen Erfolg konnte man auch bei dem *herausgeschnittenen Herzen* eines Frosches beobachten [*Práwdicz-Neminski*, 1921[2])]. Hier waren auch die Hinweise bezogen auf die Vergrößerung des Schlagvolumens und auch des Tonus des Herzens bei der gleichzeitigen Wirkung der beiden Kationen.

Die nachfolgende Arbeit war der Ausarbeitung der Ammonium-Magnesiumlösung für das herausgeschnittene Herz des Frosches [*Prawdicz-Neminski*, 1923[3])] gewidmet. Diese Flüssigkeit hatte die Fähigkeit, die Aktivität des Herzens zu beschleunigen, welche nach dem dauernden Verweilen in der Ringerlösung abgeschwächt war. (Zu 100 ccm Ringerlösung ohne Soda, um der Abscheidung des Calciums durch das Ammonium vorzubeugen, muß man etwa 20 mg $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ + ¼ mg NH_3 hinzufügen.) So hat der *Antagonismus* dieser Kationen zu *der Festsetzung* ihres *Synergismus* (bei gewissen Verhältnissen) geführt. Der Gehalt der Ammonium-Magnesiumlösung nähert sich mehr dem Gehalt des Blutes als die Flüssigkeit ohne $(NH_4)^{\cdot}$.

Über die Ermüdung.

Das Entfernen des Magnesiums durch Ammonium aus der arbeitenden Zelle gibt uns die Möglichkeit zur Aufklärung der Rolle dieses Kations *zwischen* den zahlreichen Faktoren, durch welche die *Ermüdung* hervorgerufen wird. (Oben haben wir — nach den literarischen Veröffentlichungen — die Bildung des Ammoniaks bei der Arbeit der Muskelgewebe betont.) Und wirklich, wenn der Verlust des Magnesiums durch Ammoniak (in gewissen Grenzen) eine negative Rolle spielt, so kann man — durch das Hinzufügen des Magnesiums — die Ermüdung des arbeitenden Muskels hindern[4]).

[1]) *Práwdicz-Neminski*, Über die Bedeutung der Kationen $(NH_4)^{\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$. Erste Mitteilung, 1915, Autoreferat in dem „Wratschebnoe Drelo" 1924, Nr. 8/9 (russisch 1924, es wird erscheinen).

[2]) *Práwdicz-Neminski*, Antagonismus der Wirkung des Ammoniumhydroxyds und Magnesiumchlorids auf das Herz der Kaltblüter, 1920/21 (Vortrag in der Kiew. Ges. d. Naturf., 6. März 1921); Journ. d. Med. d'Ekaterinoslaw 1924.

[3]) *Práwdicz-Neminski*, Die Ammonium-Magnesium- (stimulierende) Lösung für das Herz der Kaltblüter. 1923. (Vortrag in der Kiew. wissensch. Ges. d. Ärzte, 1. Dezember 1923.)

[4]) Dr. *Iskerski* teilte mir folgendes mit: Bei jungen Menschen (22 Jahre alt) tritt nach dem Durchlaufen von 7 km (im Stadion) *viel Tripelphosphat* im Harn auf, bei saurer Reaktion. (Vor dem Laufe war der Harn ganz normal).

Die interessanten (empirischen) Beobachtungen von *R. Benda*[1]) haben gezeigt, daß bei dem Muskeldurchströmungspräparat, das durch die Aorta abdominalis mit der Na-Lösung + $MgCl_2$-Lösung durchströmt wird, die Ermüdbarkeit (als Folge der Reizung) durchaus nicht gesteigert ist, sondern sogar herabgesetzt sein kann. *Benda* findet es schwer, die Ursache der Erscheinung zu erklären, die jedoch unsere Vermutung bestätigt hat. (Die Ansicht über die Bedeutung der *Kenotoxine* von *Weichardt*[2]) wird von uns nicht geteilt.)

Bei den Versuchen mit dem nervösen Zuleitungsapparat bemerkte man einen entgegengesetzten Effekt. Er hängt gewiß von den zu großen Konzentrationen der Magnesiumsalze (0,1proz.) ab, obgleich sich *Benda*, wie man es aus seiner Arbeit sieht, bemühte, „für das Studium der Wirkung auf das Nerven-Muskelpräparat nur solche Konzentrationen von $MgCl_2$ anzuwenden, die noch nicht ‚curareartig' wirkten".

Der Autor selbst zeigt, daß „die *Reizbarkeit* in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle schon bei geringer Konzentration von $MgCl_2$ *mäßig herabgesetzt* war".

Es ist augenscheinlich, daß man für den Nervenapparat noch mehr verdünnte Lösungen der Magnesiumsalze nehmen muß, *vielleicht nur Spuren*, damit man die Gelegenheit hat, einen günstigen Einfluß von Magnesium bei der Ermüdung zu beobachten. Darauf weisen auch die zitierten analytischen Angaben hin, daß im Gehirn der „*Magnesium*tiere" *nur Spuren* des Magnesiumsalzes zu finden sind.

Unsere Meinung über die Bedeutung des Ammoniaks als eines Ermüdungsstoffes findet eine Bestätigung in folgenden Worten von *Heinz*: „Bei Stoffen, die die Ermüdung beschleunigen, treten sie schon nach kurzer Reizung ein. Eine derartige Wirkungsweise zeigen die primären, sekundären, tertiären Amine der aliphatischen Reihe, weniger ausgesprochen die *Ammoniumbasen* und in geringem Grade auch das Curare[3])."

Die „curareartige" Wirkung *der Amine der aliphatischen Reihe wird erläutert durch die Bedeutung der Radikale, hauptsächlich des Methyls.*

Nach *Böhm*[4]) ist das Curarin eine quartäre Base und läßt sich durch Methylieren des an sich unwirksamen Curins gewinnen. Gleichzeitig muß man notieren, daß das *Cholin* die Curarelähmung an den Endplatten aufhebt[5]).

Es ist bemerkenswert, daß *die Bildung* der von *Rancke* entdeckten *Milchsäure bei der Ermüdung* (später verliert sie ihre Bedeutung eines Ermüdungsstoffes nach den Versuchen von *Weichardt* mit dem dialysierten Muskelpreßsafte) die Bedeutung eines zweckmäßigen

---

[1]) *R. Benda*, Zeitschr. f. Biol. **63**, 1914.

[2]) *Weichardt*, Über Ermüdungsstoffe. Stuttgart 1912.

[3]) *Heinz*, D. exper. Path. u. Pharm. **1**, H. 2, S. 494.

[4]) *Böhm*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **35**, 1894; **63**, 1910.

[5]) *Pal*, Zentralbl. f. Phys. 1910, Nr. 1; *Abderhalden* und *Müller*, Med. Klinik 1910, Nr. 22.

Prozesses bekommt, um aus den Geweben das kristallinische Tripelphosphat zu entfernen, das sich in organischen Säuren auflösen kann. In vitro wird es leicht sein, die bedeutende Löslichkeit des Tripelphosphats beim Hinzufügen von Milchsäure zu zeigen.

Die Bedeutung des Ammoniaks.

Wenn wir uns wieder *der Bedeutung* von NH_3 für den Organismus zuwenden, so ist es notwendig, zu bestimmen:

1. seine oben vermerkte Rolle in den *rhythmischen Prozessen* des Organismus (in den Bewegungen des Magen-Darmkanals, die mögliche Wirkung auf den Rhythmus und den Tonus des Herzens);

2. die in der Literatur vermerkte Rolle der quartären *Ammoniakderivate* (Cholin und andere), als Regulatoren in den korrelativen Prozessen im Organismus[1]);

3. den wertvollen Hinweis von *Smorodinzew*[2]), daß alle bis jetzt bekannten *Hormone*, wie man nach den literarischen Veröffentlichungen urteilen kann, entweder *zu den Derivaten des Ammoniaks* (zu den verschiedenen Aminen) oder zu den anorganischen Verbindungen gehören. *Smorodinzew* gibt die Klassifikation der Hormone, welche als eine Entwicklung der ersten Versuche von *Krimberg*[3]) in dieser Richtung erscheint:

1. Anorganische Verbindungen: a) Kohlensäure; b) Salzsäure; c) Ionen $K^{\cdot}$, $Na^{\cdot}$, $Ca^{\cdot\cdot}$ und andere; d) Ammoniaksalze.
2. Organische Verbindungen: a) Ammoniumbasen: Cholin, Betain, Cornisin; b) Amine: Adrenalin, Spermin, Amino-Alkoholin; Proteinogenamine; c) Guanidinderivate: Methylguanidin, Dimethylguanidin; d) Carnosin, gepaarte Gallensäuren.
3. Vorratsreservoire von Hormonen: a) Gewebsphosphate; b) die Gewebeeiweißstoffe.
4. *Hormonendrüsen*, Hormonogeneratoren; Substanzen, welche die Gewebe zur Bildung der Hormone stimulieren; Extrakte: a) aus der Schilddrüse; b) aus Thymus; c) Hypophyse; d) Gl. pinealis; e) aus den Nebennieren; f) der Darmwand; g) aus Geschlechtsdrüsen und anderen.

In dieser Klassifikation muß sich am Ende der Gruppe der anorganischen Hormone das Ammoniak befinden.

Wie die Kohlensäure, so muß NH_3 *zu den primitiven Hormonen* gerechnet werden, aber *seine Bedeutung scheint größer zu sein*, weil es das *bindende Glied* zwischen den anorganischen und den organischen Hormonen bildet, die letzteren sich aber zu einem bedeutenden Teil

---

[1]) *Hamburger* (1922), nach den Versuchen von *O. Loewi*, *Brinkman-van Dam*, *Jendrassik*.

[2]) *Smorodinzew*, Klin. Med. 1923, Nr. 5 (russisch).

[3]) *Krimberg*, Hormone. 1918 (russisch).

zu den Derivaten des Ammoniaks — zu verschiedenen Arten von Aminen — rechnen.

(Zwischen CO_2 und NH_3 gibt es außerdem eine gewisse Ähnlichkeit: das eine ist ein *C-haltiges*, das andere ein *N-haltiges* Endprodukt des Stoffwechsels.)

So ergibt sich die Notwendigkeit, die große Bedeutung des Ammoniaks als Hormon und als chemischen Grundstoff einer ganzen Reihe von hormonalen Regulatoren anzuerkennen.

Das vermindert nicht im geringsten den selbständigen Wert der Untersuchung der Ammoniakwirkung: die Einfachheit der chemischen wechselseitigen Verhältnisse, welche die chemische Gleichung anzuwenden erlauben, die Möglichkeit der Kontrolle der theoretischen Folgerungen mit Hilfe von $Mg^{\cdot\cdot}$ und $Ca^{\cdot\cdot}$ usw. *Parallel mit der Ammoniakwirkung können auch andere Prozesse stattfinden, die von anderen Hormonen hervorgerufen werden. Die Art ihrer Wirkung ist für die Untersuchung viel komplizierter — und der Weg zu ihrer Kenntnis führt unzweifelhaft über die Prüfung der einfachsten Verhältnisse.*

Unsere Aufmerksamkeit wird auch fixiert durch Methoden der Hervorrufung der *künstlichen Parthenogenese von Delage*[1]) mit Tanninsäure und *Ammoniaklösung*[2]) und durch die Mitteilung von *Warburg*[3]) über die Reaktion zwischen Vogelblutzellen und Ammoniaklösung, „die an dem Verschwinden der OH-Ionen erkannt wird".

II. Zur Pharmakologie und klinischen Bedeutung von $Mg^{\cdot\cdot}$ und $(NH_4)^{\cdot}$.

Die Wirkung *großer* Mengen von **Magnesiumsulfat** ist allbekannt (das Laxieren ist nach *Schmiedeberg* und anderen an den *physikalischen* Prozeß des Wasseranziehungsvermögens gebunden).

Wenig bekannt ist, daß „die peristaltischen Bewegungen und auch die sekretorische Tätigkeit, die von diesen salinischen Abführmitteln hervorgerufen werden, durch Lösungen von Calcium- oder *Magnesium*chlorid gehemmt werden können" [nach *Mac Callum*[4])].

Mehr bekannt ist die curareartige Wirkung der Magnesiumsalze auf die Nerven des Frosches (*Binet*, 1892) und der Säugetiere (*Wiki*, 1906, 1912; *Straub*, 1915; *Markwalder*, 1916), und auch die narkotische

---

[1]) Siehe *Godlewski*, Physiologie der Zeugung in Wintersteins vergleichende Physiologie **8**, H. 2, S. 819, 1910—1914; *Delage*, Arch. de Zool. expér., Sér., **4**, 7. 1908; *Delage*, C. r. de l'Acad. de scienc. **148**, **1909**; *Shearer-Lloyd*, The Quart. Journ. of microsc scienc. **58**, 1913.

[2]) Eine positive Wirkung des Ammoniaks auf die befruchteten Eier des Frosches haben wir während unserer *vorläufigen Versuche* im Frühling 1924 beobachtet.

[3]) *Warburg*, Ergebn. d. Physiol. **14**, 301, 1914.

[4]) *Mac Callum*, Pflügers Arch. **104**, 425, 1904.

Wirkung auf das Zentralnervensystem (*Meltzer-Auer*, 1905; *Mansfeld*, 1915). Auf diese Eigenschaft gründet sich die praktische Anwendung der Magnesiumsalze bei den Muskelkrämpfen (*Meltzer-Auer*; *Koeher*, 1914; *Stadler*, *Falk*, *Krause*, 1915).

Um die *Empfindlichkeit* und dadurch die Entzündungserscheinungen zu hemmen, benutzt man das Streupulver aus Magnesiumsilicat[1]). Man hat bemerkt, daß im Tierexperiment die Temperatur des Körpers unter dem Einfluß der die Zentralnerven lähmenden Magnesiumsalze fällt (*Schütz*, 1916). Alle diese Befunde erklären sich mittels des *Loebschen Gesetzes*. Diese These macht es uns möglich, das $Mg^{\cdot\cdot}$ zur Beseitigung der Bewegungen des Magens zu benutzen, wenn dieses Organ der Ruhe bedürftig ist (bei *Ulcus ventriculi*). Seine Wirkung kann bei der *Vagotonie* erprobt werden, welche zu den spastischen Obstruktionen beiträgt; es hilft, das *Erbrechen* zu unterdrücken und ist *in anderen Fällen* zweckdienlich.

Während meines Vortrages in der Kiewer wissenschaftlichen Gesellschaft der Ärzte machte mir Prof. *N. D. Straschesko* liebenswürdigerweise die Mitteilung, daß eine kleine Dosis von Magnesiumpräparaten für die angegebenen Zwecke bei Ulcus ventriculi mit gutem Erfolg angewendet wurde.

Es bleibt nur noch übrig, folgende Frage zu stellen: Kann die Hypersekretion, welche *mit der Produktion von* NH_3 *einhergeht*, mit der unaufhörlichen Magnesiumentziehung (und $Ca^{\cdot\cdot}$) aus den Wänden des Magens und mit der Bildung eines Ulcus in Verbindung gebracht werden?

Die positive Antwort würde auf die rekonstruierende Bedeutung der Magnesiumpräparate bei Ulcus hinweisen.

Interessant ist der Antagonismus zwischen $Mg^{\cdot\cdot}$ und $Ca^{\cdot\cdot}$ bei der intravenösen Injektion dieser beiden Stoffe: eine unbedeutende Quantität von $Ca^{\cdot\cdot}$ beseitigt fast augenblicklich die narkotische Wirkung des Magnesiums; Oxalsäure als Zusatz zu den Magnesiumsalzen verstärkt durch Kalkentziehung die narkotisierende Wirkung (*Meltzer-Auer*, 1908; *Schütz*, 1913; *Starkenstein*, 1913; *Gates-Meltzer*). — Der Antagonismus zwischen $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ bei den Pflanzen wurde bereits im Jahre 1883 von *Raumer*[2]) festgestellt.

Die reflektorische Wirkung von NH_3 auf das Atemzentrum durch den Nervus olfactorius et trigeminus, sowie auch die „nüchtern machende" Wirkung des Ammoniumhydroxyds ist aus dem Leben bekannt. Verbreitet ist auch die Anwendung von NH_3 in verschiedenen Linimenten, um von der Haut auf die Vasomotoren einzuwirken. [Zugleich existierte sonderbarerweise eine Verneinung der Wirkung der Ammoniaksalze bei der Aufnahme einer inneren Wirkung (*Hallervorden*, s. oben S. 390)].

---

[1]) In der zoologischen Praxis dienen die Magnesiumsalze zur Narkose der niederen Tiere (*Lee-Mayer*, Mikroskopische Technik für Zoologen. 1901.).

[2]) *Raumer*, Vers.-Stat. **29**, **25**, 1883; nach *Egoroff*, Die Düngung des Bodens. Charkow 1919.

In der klinischen Praxis geschieht es manchmal, daß man es mit der Anhäufung von NH_3 in dem Blute und Harn bei *Ammoniämie* zu tun hat.

Das Vorhandensein von NH_3 während der Ammoniakform der azotämischen Urämie gab *Frerichs* die Möglichkeit, die Ammoniaktheorie der Urämie voranzustellen. Diese Theorie gab den Anschauungen von *Bouchard* Platz über die Möglichkeit der Existenz auch anderer vergiftender Stoffe. Die Vergrößerung der Quantität von NH_3 wird auch bei anderen Krankheiten beobachtet: bei Diabetes mellitus (nach *Münzer* im Blute von 9,7 bis 20 Proz. des Ammoniaks), bei Cirrhosis hepatis, bei der scharfen gelben Atrophie.

Aber *nicht immer spielt das NH_3 die Rolle eines schädlichen Agens*. Eine ganze Reihe Autoren verteidigt seine Bedeutung als *neutralisierende Substanz* für Säuren [*Neutralitätsregulator*[1])]. Diese Betrachtung ruft in einigen Fällen Zweifel hervor; es kann scheinen, als ob das NH_3 *im Überfluß* ausgeschieden wird. In solchen Fällen ließe sich vielleicht die Frage durch Analyse des Tripelphosphats entscheiden, dessen Auftreten man in den Abscheidungen des Organismus erwarten kann (im *Kote* und im Harn). *Dann* müssen die Symptome der Vergiftung (die Übelkeit, das Erbrechen, die Krämpfe, die epilepsieähnlichen Anfälle, das Irrereden usw., das so klar bei der gelben Atrophie der Leber zum Vorschein kommt) eine Erklärung finden vom Standpunkte der Störung des Magnesiumgleichgewichts. Dadurch entsteht die Frage nach der Zweckmäßigkeit, Magnesiumpräparate zu verschreiben.

Die Nervopathologen wiesen uns nach unserem Vortrage darauf hin, daß sich *bei der erblichen periodischen Lähmung* im *sauren* Harn eine *sehr große* Quantität von Tripelphosphat befindet. Hier wird augenscheinlich eine Störung im Magnesium-[2]) oder Ammoniakstoffwechsel bemerkt. Dadurch werden die Wege zur Forschung gebahnt.

Bei der *Cholera*, dieser an Erbrechen und quälenden Krämpfen so reichen Krankheit, findet man Tripelphosphat in den Ausscheidungen. Die Krämpfe erklärt man gewöhnlich als Resultat der spezifischen Wirkung von Choleragiften, aber es gibt Hinweise (*Strümpel*, Handbuch), daß sie auch bei anderen schweren und scharfen Darmkrankheiten und auch bei *Cholera nostras* beobachtet werden. Man kann zugeben, daß bei den Cholerakranken NH_4 im Überfluß gebildet wird [als Resultat der Krämpfe[3])]; hier müssen wir uns an die Hinweise (*Jaksch*, *Winterberg*) erinnern, daß NH_3 sich aus alkalischen Substanzen bilden kann.

---

[1]) Nach *Albertoni* (Ergebnisse der Physiologie 1921) und *Hasselbalch*, diese Zeitschr. 74, 1917.
[2]) Und vielleicht Calciumstoffwechsel?
[3]) Zwischen anderen Produkten des Stickstoffstoffwechsels.

Es wäre sehr wünschenswert, *die heilende Wirkung von Mg¨ in allen diesen Fällen von Ammonämie* (besonders bei der Ammoniakform der azotämischen Urämie) *auszuprobieren* und zugleich parallele Beobachtungen über das Tripelphosphat, Mg¨ (und Ca¨) im *Kot*, in dem *Harn* und im *Schleime*[1]) anzustellen.

Vorträge.

1. In der Kiewer Gesellschaft der Naturforscher, 6. März 1921.
2. In der Kiewer wissenschaftlichen Gesellschaft der Ärzte, 1. Dezember 1924.

Mitteilungen.

3. Autoreferat der Arbeit (1915) in dem „Wratschebnoe Drelo“ 1924, Nr. 8—9. Charkoff.
4. In der Jubiläumssammlung von *Janowsky*, Kiew 1924. (Es wird erscheinen.)

5.—7. s. S. 399.
8.—11. s. S. 399.

---

[1]) Tripelphosphat wurde früher im Schleime beobachtet, ohne die Aufmerksamkeit auf sich zu ziehen.

Fermente und Licht. VI.

Über Beeinflussung von Fermentwirkungen durch Jodsalze unter Bestrahlung.

Von

Ludwig Pincussen.

Aus der biochemischen Abteilung des städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 3. September 1924.)

Es ist seit längerer Zeit bekannt, daß Jodwasserstoffsäure wie auch Jodsalze unter Bestrahlung freies Jod abspalten. Ich habe versucht, diese Tatsache in ihrer Wirkung auf biologische Vorgänge auszuwerten und gebe zunächst in dieser Abhandlung die Resultate, die ich bezüglich der Wirkung auf verschiedene Diastasen gewonnen habe.

Ich habe zunächst festzustellen versucht, wie sich die Jodabspaltung in Jodidlösungen unter verschiedenen Verhältnissen vollzieht, und zwar einerseits unter dem Lichte der Quarzlampe, andererseits unter dem einer starken gasgefüllten Glühlampe. Die Versuche wurden einfach so ausgeführt, daß eine gewisse Menge Jodsalzlösung der Strahlung unterworfen wurde und darauf die freigesetzte Jodmenge durch Titration mit n/100 bzw. n/200 Thiosulfat ermittelt wurde.

Quarzlampenversuche, welche so angestellt wurden, daß die mit den Lösungen gefüllten Quarzröhrchen in 10 cm Entfernung der Strahlung einer kleinen Quarzlampe, welche mit 60 Volt und 2 Amp. brannte, ausgesetzt wurden, wobei durch Wechsel der Reagenzgläschen für durchaus gleichmäßige Belichtung aller Proben gesorgt wurde, zeigten zunächst, daß die Wirkung eine deutliche Abhängigkeit von der Reaktion besitzt. Sobald freie Jodwasserstoffsäure vorhanden ist, was z. B. durch Zugabe von wenig H_2SO_4 erreicht wird, erfolgt die Jodabspaltung in weit höherem Maße als ohne diese. Auch ohne Zusatz einer starken Säure zeigt sich deutlich Abhängigkeit von der Reaktion, wie z. B. folgende Tabelle zeigt.

Gemischt gleiche Teile von n/10 K J-Lösung und m/15 Phosphatpuffer. Belichtet 1 Stunde.

Bei p_H 4,53 wurden zur Titration gebraucht 0,08 ccm n/100 Thiosulfat.
„ p_H 6,24 „ „ „ „ 0,04 „ n/100 „
„ p_H 6,81 „ „ „ „ 0,02 „ n/100 „
„ p_H 7,35 „ „ „ „ 0,02 „ n/100 „
„ p_H 8,30 „ „ „ „ 0,0 „ n/100 „

Man sieht also, daß die Reaktion auch noch deutlich bei Wasserstoffkonzentrationen abläuft, welche sich im Organismus vorfinden und auch sonst für biologische Fragen in Betracht kommen.

Eine weitere Abhängigkeit der Jodabspaltung ist durch die Konzentration der Lösung gegeben. Es wurden verbraucht bei Bestrahlung während einer Stunde zur Neutralisation von 5 ccm einer

n/10 J K-Lösung . . . . 0,03 ccm n/100 Thiosulfat
n/100 „ . . . . 0,01 „ n/100 „
n/1000 „ . . . . 0,00 „ n/100 „

Es scheint übrigens, daß trotz dieses Ergebnisses auch noch ganz schwache Jodlösungen in längerer Zeit so viel Jod abspalten können, daß es biologische Wirkungen ausüben kann.

Einen Einfluß auf Jodabspaltung haben ferner gewisse Sensibilisatoren, welche die Freisetzung von Jod in zum Teil sehr erheblicher Weise steigern. In den in nachfolgender Tabelle zusammengestellten Versuchen wurde derselben Bestrahlung eine Mischung ausgesetzt, die aus 3 ccm n/10 JK-Lösung + 2 ccm m/15 Phosphatpuffer + 0,5 ccm Wasser bzw. Sensibilisatorlösung zusammengesetzt war. Als Sensibilisatoren wurden benutzt: Dichloranthracen-2, 7-disulfosaures Natrium und Eosin bläulich (Höchst), beide in 0,1proz. Lösung. Es wurde auch hier bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration gearbeitet.

Gebraucht ccm n/200 Thiosulfat.

p_H	Dichloranthracen-dis. Na	Eosin	Wasser
4,52	0,44	0,38	0,10
6,24	0,45	0,40	0,08
6,81	0,43	0,37	0,07
7,35	0,32	0,26	0,07
8,30	0,02	0,0	0,01

Die Jodabspaltung ist also sehr erheblich durch diese beiden Sensibilisatoren gesteigert und dies ebenfalls noch bei hohem p_H. Versuche mit anderen Jodsalzen ergeben ganz ähnliche Resultate: das gilt auch für andere Pufferlösungen, wie Borat.

Die Abspaltungen von Jod aus verschiedenen Jodalkalien sind, soweit meine darüber ausgeführten Versuche reichen, bei Anwendung äquivalenter Mengen in sich gleich. Was die Jodsalze der Erdalkalien betrifft, so ist dabei zu berücksichtigen, daß besonders Calciumjodid außerordentlich leicht schon im diffusen Lichte Jod

abspaltet; gerade hier wird die Abspaltung durch stärkeres Licht kaum erhöht. Auch hier wirken die genannten Farbstoffe sehr erheblich ein. Die erhaltenen Werte waren gleichmäßig, welches der Salze auch angewandt wurde, verschieden jedoch nach Wahl des Sensibilisators, als welcher hier noch Sulforhodamin B in 0,5proz. Lösung benutzt wurde.

3 ccm n/10 Lösung + 2 ccm n/10 Boratlösung p_H 7.
Verbrauchte ccm n/200 Thiosulfatlösung.

	BaJ_2	SrJ_2	CaJ_2	CaJ_2
+ 0,5 ccm Wasser	0,02	0,04	0,08	(Dunkel-
+ 0,05 „ Eosin	0,18	0,17	0,19	wert 0,6)
+ 0,5 „ Dichloranthracen . . .	0,24	0,24	0,24	
+ 0,5 „ Sulforhodanin B . . .	0,16	0,18	0,16	

Es ist auffallend, daß diese Begünstigung nur durch ganz wenige fluoreszierende Farbstoffe erzielt wird. Daß es nur fluoreszierende Farbstoffe sind, scheint uns zu zeigen, daß diese Eigenschaft für die Wirkung erforderlich ist. Andererseits blieben andere fluoreszierende Farbstoffe, wie z. B. Violamin B (Höchst), Uranin O, wasserlösliches Fluorescein-Natrium, ganz ohne Einfluß. Auch die Farbe ist nicht ausschlaggebend, da beispielsweise Trypanblau, Methylviolett, Alkaliblau, Metanilgelb, Benzogrün, Benzopurpurin gleichmäßig sich als einflußlos erwiesen, die Jodabspaltung zu steigern. Auch der Molekülgröße des Farbstoffs kommt augenscheinlich ein Einfluß nicht zu, da auch hochkolloidale Farbstoffe, wie z. B. Benzopurpurin und Kongorubin, wirkungslos waren. Zu bemerken ist, daß eine Reaktionsverschiebung nach der sauren Seite hin, die sich aus dem Abbau der zugefügten Farbstoffe ergibt und hierdurch die Abspaltung von Jod begünstigen könnte, nicht in Frage kommt. Es soll darüber später Näheres mitgeteilt werden.

Andererseits ist aber sicher ein gewisser Einfluß der angewandten Strahlung festzustellen, der freilich mehr qualitativer Art ist. Bei Belichtung durch eine 300-Normalkerzen-Nitralampe mit Wiskottspiegel, 35 cm vom Strahlensammelpunkt entfernt, unter Kühlung der Lösungen, wurde durch Titration mit n/200 Thiosulfat nach zweistündiger Belichtung keine Jodabspaltung ohne Zusatz eines Sensibilisators sowie bei Zusatz anderer Farbstoffe verschiedenster Färbung und Konfiguration nachgewiesen. Durch die vorhin bereits erwähnten fluoreszierenden Farbstoffe wurde jedoch eine Freisetzung von Jod erzielt, und zwar wurden verbraucht bei Bestrahlung einer Lösung von 3 ccm n/10 JK-Lösung + 2 ccm Phosphatpuffer m/15 p_H 6,98 + 0,5 ccm Farbstofflösung bei Anwendung von

Sulforhodamin B	0,11 ccm	n/200	Thiosulfat
Eosin bläulich	0,25 „	n/200	„
Dichloranthracen-disulf. Na . . .	0,07 „	n/200	„

Bemerkt sei hier noch die andere Reihenfolge, die sich im wesentlichen aus den Absorptionsverhältnissen ergeben dürfte: verhältnismäßig starke Spaltung bei Eosinzusatz, schwache bei Zugabe von Anthracenfarbstoff, also entgegengesetzt den Versuchen bei der Belichtung mit Quarzlicht.

Für die jetzt zu schildernden Versuche über die Wirkung des Zusatzes von Jodsalzen unter Bestrahlung auf Fermente wurden verschiedene Diastasen angewandt, und zwar erstens Malzdiastase, ein reinstes Präparat der Firma Merck, zweitens Pankreasdiastase als Pankreatin Rhenania, drittens Speicheldiastase direkt aus Speichel und viertens Takadiastase in einem sehr wirksamen Präparat einer japanischen Fabrik. Die Lösungen wurden sämtlich in Wasser hergestellt, durch längeres Schütteln möglichst gut gelöst und durch Zentrifugieren der unlösliche Rückstand abgetrennt. Angewandt wurden 0,2- bzw. 0,1 proz. Lösungen, vom Speichel verschiedene Verdünnungen. Die Belichtung erfolgte in den zuerst geschilderten Versuchen ohne Zusatz eines Puffers in ähnlicher Weise wie früher geschildert, wodurch garantiert war, daß die verschiedenen, nebeneinander angestellten Proben praktisch gleiche Strahlenintensitäten erhielten. Neben einigen Reihenversuchen nach *Wohlgemuth* zur Bestimmung der stärkespaltenden Kraft, welche ich hier nicht mit anführe, da sie im wesentlichen in gleicher Weise wie die hier zu schildernden verliefen, wurde stets das maltosebildende Ferment bestimmt.

Zur Bestimmung der gebildeten Maltose wurde im Anschluß an die Ausführungen von *Willstätter* die Titration nach *Willstätter* und *Schudel* mit Hypojodit gewählt. In große Jenaer Reagenzgläser wurden je 10 ccm einer frisch bereiteten 1 proz. Lösung von löslicher Stärke eingefüllt. Hierzu kam 1 ccm einer m/3 Phosphatlösung, endlich das Ferment in der Mischung, in welcher es belichtet bzw. als Kontrolle im Dunkeln aufbewahrt worden war. Dieser Zusatz muß sehr schnell erfolgen, da bei Verzug Fehler auftreten können, weil die zuerst mit Ferment beschickten Lösungen gewissermaßen einen Vorsprung haben. Die durch leichtes Schütteln gemischten Lösungen wurden nun sehr schnell in ein Wasserbad von 40^0 übertragen, dort eine bestimmte Zeit belassen, dann wiederum zusammen herausgenommen und sofort in kaltes Wasser eingestellt. Durch Zugabe von 2 ccm n HCl wurde die Verdauung in allen Röhrchen zugleich unterbrochen. Hierauf wurde der Inhalt der Röhrchen unter Verwendung der gleichen Menge Waschflüssigkeit quantitativ in Erlenmeyerkölbchen übertragen, zu jedem Kölbchen 5 ccm n/10 Jodlösung und aus einer Bürette 3,5 ccm n Natronlauge zugegeben und nun 15 Minuten stehengelassen. Hiernach wurde mit je 2 ccm 20proz. Schwefelsäure angesäuert und darauf mit n/10 Thiosulfatlösung bis zur Farblosigkeit titriert. Bei jedem

Versuch lief ein Leerversuch daneben, welcher statt Ferment Wasser bzw. die Lösung enthielt, in welcher das Ferment sich befand. Zur Berechnung wird die beim Vollversuch verbrauchte Jodlösung von der beim Leerversuch verbrauchten abgezogen; die gebildete Maltose berechnet sich aus dieser Zahl durch Multiplikation mit 17,15 mg.

Die über den Einfluß von Jodalkali auf Malzdiastase ausgeführten Versuche ergaben folgendes:

0,2 proz. Malzdiastase, 1 proz. JK-Lösung. Belichtung: kleine Quarzlampe (2 Amp. 55 Volt) dreimal 15 = 45 Minuten, 12 cm Abstand. Verdauung 15 Minuten bei 40°.

Mischung	Gebildete Maltose	
	hell	dunkel
5 Diastaselösung + 0,5 JK-Lösung + 4,5 Wasser . .	1,5 mg	44,0 mg
5 „ + 2,0 „ + 3,0 „ . .	—	24,1 „
5 „ + 5 „	—	5,1 „

0,1 proz. Jodkalilösung, 0,2 proz. Malzdiastase.
Belichtet und verdaut wie oben.

Mischung	Gebildete Maltose	
	hell	dunkel
5 Diastaselösung + 0,5 JK-Lösung + 4,5 Wasser . .	5,2 mg	43,0 mg
5 „ + 2 „ + 3 „ . .	1,5 „	42,3 „
5 „ + 5 „	0,2 „	40,3 „

In diesen beiden Versuchen, ebenso wie in dem nachfolgenden, ist die Verdauung ohne Zusatz eines Puffergemisches vorgenommen worden.

0,01 proz. Jodkalilösung, 0,2 proz. Malzdiastase.
Belichtet und verdaut wie oben.

Gemisch	Gebildete Maltose	
	hell	dunkel
5 Diastaselösung + 0,5 JK-Lösung + 4,5 Wasser . .	17,2 mg	43,8 mg
5 „ + 2 „ + 3 „ . .	17,2 „	43,8 „
5 „ + 5 „	7,6 „	44,5 „

Im nachstehenden Versuch wurde die Verdauung unter Zusatz von 1 ccm m/3 Phosphat von $p_H = 6,65$ vorgenommen. Der Versuch fällt in gleichem Sinne wie der vorige aus.

0,01 proz. Jodkalilösung, 0,2 proz. Malzdiastase.
Belichtet und verdaut wie oben.

Mischung	Gebildete Maltose	
	hell	dunkel
5 Diastaselösung + 2 JK-Lösung + 3 Wasser	21,6 mg	46,5 mg
5 „ + 5 „	11,0 „	46,0 „
5 „ + 5 Wasser	24,2 „	46,8 „

Diese Versuche zeigen deutlich, daß es sich um eine ganz spezifische Wirkung des Jodalkalis handelt, die mit zunehmender Konzentration sich bis zur völligen Ausschaltung des fermentativen Vorganges steigert. Eine Dunkelwirkung findet sich nur bei den höheren Konzentrationen des Versuchs 1, im übrigen fehlt sie nach Aussage der ohne Belichtung gewonnenen Maltosewerte vollkommen. Der Grund der Wirkung ist zweifellos durch das infolge der Bestrahlung freigesetzte Jod gegeben. Es handelt sich hier um eine ganz typische Giftwirkung. Diese ist aber daran gebunden, daß das Jod in statu nascendi einwirken muß; setzt man bereits durch Licht abgespaltenes Jod zum Ferment zu, so bleibt diese Wirkung aus.

0,2 proz. Malzdiastase, 0,01 proz. JK-Lösung.
Verdauung wie oben.

Mischung	Gebildete Maltose
5 Diastaselösung + 2 JK-Lösung, } vorher 15 Min. belichtet .	46,8 mg
5 „ + 5 „ }	45,5 „
5 „ + 2 „ zusammen belichtet . . .	18,7 „
5 „ + 5 ccm Wasser dunkel	46,5 „

Der Mechanismus der Wirkung dürfte durch diese Versuche genügend geklärt sein.

In den folgenden Versuchen wurde die Fermentwirkung in etwas anderer Anordnung geprüft. Es wurden 20 ccm einer 1 proz. Lösung von löslicher Stärke angewandt, dazu 10 ccm einer m/15 Phosphatlösung zur Erzielung der gewünschten Reaktion und 1 ccm einer n/5 NaCl zugegeben. Fermentzusatz usw. erfolgte wie früher.

Die Tatsache, daß die Jodabspaltung bei saurer Reaktion bedeutend stärker ist als bei alkalischer, führte zu einigen Versuchen, die folgendermaßen angestellt wurden. Zu 40 ccm einer 0,2 proz. Lösung von Malzdiastase wurden einerseits 10 ccm Phosphatlösung von p_H 5,91, andererseits von p_H 7,65 zugefügt. Von den so erhaltenen Mischungen wurden je 10 ccm mit 1 ccm Wasser bzw. 1 ccm 0,5 proz. JK-Lösung vermischt und in der gleichen Weise wie vorher mit der Quarzlampe belichtet, während die Kontrollproben im Belichtungsraum dunkel aufbewahrt wurden. Die Verdauung erfolgte in allen Fällen bei p_H 5,91 durch Zusatz entsprechender Phosphatmischung.

Malzdiastase.

	Bei p_H 5,91	Bei p_H 7,65
Ohne JK belichtet	19,3 mg Maltose	21,2 mg Maltose
Mit JK belichtet	0,86 „ „	8,55 „ „
Ohne JK dunkel	53,0 „ „	49,5 „ „
Mit JK dunkel	55,0 „ „	52,0 „ „

Die Schädigung ist also erheblich stärker bei saurer Reaktion ausgesprochen, ein Zeichen, daß die Höhe der Jodabspaltung hierfür maßgebend ist.

Während wir in allen Fällen gesehen haben, daß die für die Versuche angewandte Malzdiastase durch Jodidzusatz unter Belichtung erheblich geschädigt wird, ergeben sich für die anderen benutzten Diastasen seltsamerweise ganz andere Verhältnisse. Die zu schildernden Versuche, die ebenfalls mit der Quarzlampe ausgeführt wurden, ergaben zunächst für Speicheldiastase eine ganz gegensätzliche Beeinflussung.

Ich möchte aus der großen Zahl gleichsinniger Versuche nur einige herausgreifen, welche zugleich die Wirkung der Bestrahlung bei verschiedenem p_H zeigt.

Fünfmal verdünnter, filtrierter Speichel wurde mit der gleichen Menge m/15 Phosphatlösung p_H 5,91 bzw. p_H 7,65 gemischt. Zu 10 ccm Mischung wurde 1 ccm Wasser bzw. 0,5proz. JK-Lösung zugefügt. Bei der Wirkung auf Stärke wurde durch entsprechenden Phosphatzusatz stets das p_H 7,0 hergestellt. Verdaut 30 Minuten bei 40°.

Die gefundenen Maltosewerte waren die folgenden:

Speicheldiastase.

	Bei p_H 5,91	Bei p_H 7,65
Ohne JK belichtet	17,6 mg Maltose	12,5 mg Maltose
Mit JK belichtet	22,8 „ „	20,3 „ „
Ohne JK dunkel	33,2 „ „	33,1 „ „
Mit JK dunkel	33,1 „ „	32,4 „ „

Es ergibt sich also ganz im Gegensatz zum Verhalten der Malzdiastase eine deutlich stärkere Fermentwirkung unter Jodzusatz, und zwar ist die Besserung erheblich größer bei der Belichtung bei alkalischer Reaktion. Das scheint dafür zu sprechen, daß hier die in früheren Arbeiten gezeigte Schutzwirkung durch das Salz so groß ist, daß eine Schädigung durch freigesetztes Jod zum mindesten überkompensiert, vielleicht auch verhindert wird. Andere Möglichkeiten, besonders die einer Begünstigung durch J in statu nascendi, möchte ich vorläufig nicht diskutieren.

Ganz ähnlich sind die Ergebnisse, welche mit Takadiastase erhalten wurden. Die Versuchsanordnung war genau dieselbe wie eben ge-

schildert; ausgegangen wurde von einer 0,2proz. Lösung in destilliertem Wasser, wobei nur ein ganz minimaler Rückstand erhalten wurde.

Takadiastase.

	Bei p_H 5,91	Bei p_H 7,65
Ohne JK belichtet	23,2 mg Maltose	17,6 mg Maltose
Mit JK belichtet	38,5 „ „	31,2 „ „
Ohne JK dunkel	52 „ „	51 „ „
Mit JK dunkel	51,5 „ „	51,0 „ „

Es ergibt sich also ebenfalls eine deutliche Verbesserung im Lichte nach Jodkalizusatz gegenüber den Lichtproben ohne JK. In diesem Versuche ist diese Wirkung bei den verschiedenen p_H ziemlich gleich, es findet kein Überwiegen der „Schutzwirkung" bei der Reaktion statt, welche für die Fermentwirkung als günstiger, näher dem optimalen Punkt gelegen, anzusehen ist. Das erklärt sich möglicherweise daraus, daß die günstigere Reaktion der Takadiastase auch für die Jodabspaltung unter Licht günstiger ist, so daß sich diese beiden Faktoren vielleicht ausgleichen. Für Takadiastase wurden auch, gewissermaßen um ein Beispiel zu haben, Versuche angestellt, ob die verschiedenen Jodalkalien in ihrer Wirkung einen Unterschied zeigen. Nachdem vorher festgestellt worden war, daß die Jodabspaltung aus den verschiedenen Jodalkalien praktisch gleich ist, hätte eine Differenz auf die Kationen bezogen werden müssen. Hierzu wurde 0,2proz. Takadiastaselösung mit der gleichen Menge m/15 Phosphatlösung p_H 5,91 gemischt und zu 10 ccm je 1 ccm Jodalkalilösung äquimolarer Konzentration (entsprechend einer JK-Konzentration von 0,5 Proz.) zugefügt. Sonstige Versuche in üblicher Weise.

Takadiastase mit verschiedenen Jodiden.

Zusatz	Belichtet	Unbelichtet
Wasser	27,2 mg Maltose	54,0 mg Maltose
Na J	41,6 „ „	53,3 „ „
K J	43,2 „ „	53,5 „ „
Rb J	43,1 „ „	54,1 „ „
Cs J	42,2 „ „	53,4 „ „

Es zeigt sich also einwandfrei, daß Unterschiede nicht bestehen, daß der schädigende Einfluß dem abgespaltenen Jodatom zuzuschreiben ist.

Endlich wurden noch die gleichen Versuche mit Pankreasdiastase ausgeführt. Während bei den bisher besprochenen Diastasen in klarer Weise ein Einfluß, sei es in begünstigender, sei es in schädigender Weise festgestellt werden konnte, ergeben die Versuche mit Pankreasdiastase zunächst eine Wirkungslosigkeit des Jodalkalizusatzes.

Der erste der zu schildernden Versuche wurde in ganz gleicher Weise wie die vorher beschriebenen, ausgehend von einer 0,2 proz. Pankreatinlösung, angestellt. Belichtet wurde ebenfalls unter Zusatz von Phosphatgemisch p_H 5,91 bzw. 7,65; die Verdauung erfolgte bei p_H 7,65 während 35 Minuten bei 40°.

Pankreasdiastase.

	Bei p_H 5,91	Bei p_H 7,65
Ohne JK belichtet	51,0 mg Maltose	53,0 mg Maltose
Mit JK belichtet	52,5 „ „	55,8 „ „
Ohne JK dunkel	58,0 „ „	57,5 „ „
Mit JK dunkel	58,0 „ „	58,0 „ „

Ein Versuch, bei dem in gleicher Weise 0,2- und 0,1 proz. Pankreatin lösung bei p_H 5,9 untersucht wurde, ergab das gleiche Resultat.

	0,2 proz. Pankreatin	0,1 proz. Pankreatin
Ohne JK hell	23,6 mg Maltose	2,75 mg Maltose
Mit JK hell	23,2 „ „	4,15 „ „
Ohne JK dunkel	48,0 „ „	14,6 „ „
Mit JK dunkel	48,2 „ „	15,2 „ „

Es scheint sich hier also gewissermaßen um ein Gleichgewicht zwischen der schädigenden Jodwirkung und der schützenden Salzwirkung zu handeln. Wird die Jodabspaltung durch die vorher erwähnten fluoreszierenden Farbstoffe vermehrt, so finden wir eine deutliche Schädigung. Eine 0,1 proz. Pankreatinlösung, verdünnt mit der gleichen Menge m/15 Phosphat p_H 5,91. Vor Belichtung je 10 ccm gemischt mit:

	Belichtet 60 Minuten	Unbelichtet
2 ccm Wasser	8,6 mg Maltose	32,5 mg Maltose
1 ccm 0,5 proz. JK + 1 ccm Wasser .	6,3 „ „	32,3 „ „
1 ccm Eosinlösg. + 1 ccm Wasser .	7,0 „ „	14,1 „ „
1 ccm Eosin + 1 ccm JK-Lösung .	2,9 „ „	14,9 „ „
1 ccm Dichloranthracen + 1 ccm Wasser	10,5 „ „	28,3 „ „
1 ccm Dichloranthracen + 1 ccm JK-Lösung	6,9 „ „	28,0 „ „

Die verschiedenen Dunkelwerte sind natürlich durch das Jodbindungsvermögen der Farbstoffe bedingt; die Hellwerte zeigen deutlich den schädigenden Einfluß des freigesetzten Jods auf das Ferment.

Die Versuche über die Beeinflussung der Diastasewirkung unter Belichtung bei Zusatz von Jodalkalien ergeben demnach, daß, summarisch betrachtet, tiefgreifende Unterschiede zwischen den verschiedenen Diastasen bzw. Diastasepräparaten bestehen. Im Gegensatz zu der

sehr ausgesprochenen schädigenden Wirkung des unter Belichtung gebildeten Jods auf die Malzdiastase, welche bei allen Reaktionen unter allen Verhältnissen sehr deutlich ausgesprochen ist, stehen die gewissermaßen begünstigenden Wirkungen, welche der Jodalkalizusatz auf die zu belichtenden Lösungen von Takadiastase und Speichelamylase ausübt. Ob es sich hierbei um eine spezifische Wirkung handelt oder, wie nach früheren Versuchen angenommen werden kann, um einen allgemeinen Salzschutz, läßt sich vorläufig nicht mit Sicherheit entscheiden. Für die letztere Auffassung sprechen die Versuche mit Pankreasdiastase. Hier trat in den meisten Versuchen weder eine Förderung noch eine Hemmung auf, was man im letztgenannten Sinne so deuten könnte, daß Schädigung durch Jod und Schutzwirkung durch das Salz sich die Wage halten. Wird durch Zusatz sensibilisierender Farbstoffe die Jodabspaltung über das sonstige Maß hinaus gesteigert, so überwiegt die Schädigung den Schutz, und es resultiert eine allgemeine größere Schädigung als vorher, die freilich noch immer nicht das Ausmaß der an anderen Diastasen beobachteten erreicht. Es wird also noch erforderlich sein, neben einer verschieden großen Salz-Schutzwirkung eine verschiedene Empfindlichkeit der Diastasen gegenüber Jod anzunehmen.

Fermente und Licht. VII.

Von

Ludwig Pincussen.

Über Beeinflussung von Fermentwirkungen durch Jodsalze unter Bestrahlung. II.

Von

N. Klissiunis (Athen).

(Aus der biochemischen Abteilung des städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 3. September 1924.)

In der vorigen Abhandlung ist gezeigt worden, daß unter Zusatz von Jodalkalien die fermentative Tätigkeit von Diastasen in charakteristischer Weise verändert wird. Es ergab sich bei der Malzdiastase eine deutliche Verschlechterung der Fermentwirkung gegenüber den gleichbehandelten Proben, welche ohne Jodalkalizusatz belichtet worden waren, bei den anderen Diastasen, der Takadiastase und der Speicheldiastase, im Gegensatz hierzu eine Besserung. Es interessierte, das Verhalten anderer Fermente in gleicher Weise zu prüfen. Die hier zu schildernden Versuche beziehen sich auf die Beeinflussung des tryptischen Ferments. Als Material diente Pankreatin purissimum Rhenania, welches in der Regel in 0,2proz. Lösung angewendet wurde. Als Substrat wurde Casein nach *Hammarsten* benutzt. Die Versuchsanordnung war die folgende.

Es wurden fünf verschiedene Proben mit der gleichen Pankreatinlösung angesetzt:

1. 4 ccm Pankreatin + 1 ccm Wasser.
2. 4 ccm Pankreatin + 1 ccm vorher belichteter Jodidlösung.
3. 4 ccm Pankreatin + 1 ccm unbelichteter Jodidlösung.
4. 4 ccm Pankreatin + 1 ccm Jodidlösung.
5. 4 ccm Pankreatin + 1 ccm Wasser.

Belichtet wurden während gleicher Zeit — meistens 1 Stunde — in der in vorheriger Abhandlung geschilderten Weise in Quarzgläsern mit Hilfe einer Quecksilberquarzlampe bei 60 Volt Klemmenspannung und 2 Amp. in 12 cm Abstand die Proben 4 und 5, außerdem eine kleine Menge der stets frisch hergestellten Jodidlösung, die nachher zur Probe 2 zugefügt wurde. Auf diese Weise war es möglich, einerseits die Wirkung des unbehandelten Trypsins, andererseits die des mit und ohne Jodidzusatz belichteten miteinander zu vergleichen. Um zu prüfen, ob nachträglich zugesetztes, aus Jodid durch die Bestrahlung freigemachtes Jod die Wirkung ebenfalls beeinflussen könnte, diente die Probe 2.

Die Prüfung auf den fermentativen Abbau erfolgte folgendermaßen. In fünf große Jenaer Reagenzgläser wurden zuerst 10 ccm 0,5 proz. Caseinlösung hineingetan. Diese wurde so hergestellt, daß 0,5 g Casein unter Zusatz von etwas Wasser und 6 ccm m/3 sekundärem Phosphat durch kurzes Aufkochen gelöst wurden. Sodann wurden 4 ccm m/3 primäres Phosphat zugegeben und die Lösung zum entsprechenden Volumen (100 ccm) aufgefüllt. Um vielleicht zurückgebliebene Caseinpartikelchen zu entfernen, wurde die Lösung durch ein grobes Filter gegeben. In die Reagenzgläser kamen ferner 6 ccm einer Mischung von 6 ccm sekundärem und 4 ccm primärem m/15 Phosphat. Hierzu wurden schnell die fünf Pankreatinproben gefügt und nach Durchmischen die Reagenzgläser für eine Stunde in ein Wasserbad von 40^0 übertragen. Nach dieser Zeit wurden sie herausgenommen und zur Unterbrechung der Reaktion noch in jedes Glas 5 ccm n H_2SO_4 zugegeben.

Die Enteiweißung zur Feststellung der durch den Abbau erhaltenen Spaltungsprodukte erfolgte grundsätzlich nach der von *Pincussen* früher angegebenen Methode mit Trichloressigsäure und wolframsaurem Natrium. Die Lösungen wurden in Meßkölbchen von 50 ccm überführt und zunächst in jedes 5 ccm einer 20 proz. Trichloressigsäurelösung gegeben. Nunmehr wurden zur Neutralisation der früher zugefügten Schwefelsäure 5 ccm n NaOH zugefügt und nach Mischung die Koagulation durch Zugabe von 5 ccm einer 10 proz. Lösung von wolframsaurem Natrium beendet. Es wurde nunmehr aufgefüllt, filtriert und ein aliquoter Teil, meist 20 ccm, zur N-Bestimmung nach der im hiesigen Institut üblichen Mikromethode verwandt. In den meisten Fällen wurden Doppelbestimmungen ausgeführt.

Wie die nachfolgende Zusammenstellung zeigt, wurden die Versuche mit verschiedenen Alkalijodiden sowie Jodiden der alkalischen Erden ausgeführt. Es kamen zur Untersuchung KJ, NaJ, LiJ, RbJ, BaJ_2 und SrJ_2. Versuche mit CaJ_2 wurden nicht ausgeführt, weil dieses Salz schon im diffusen Lichte sehr reichliche Mengen von J

abspaltet. Um bessere Vergleichsmöglichkeiten zu haben, wurden meist Normallösungen bzw. n/2 oder n/5 Lösungen benutzt. Es ist durchaus erforderlich, daß die Lösungen jedesmal frisch hergestellt und auch nach der Herstellung dem Lichte nicht ausgesetzt werden. Wie sich aus anderen Versuchen, besonders biologischer Art, ergibt, sind schon so geringe Jodmengen, wie sie gerade durch Stärke angezeigt werden, imstande, deutliche Wirkungen auszuüben.

Die nachfolgende Zusammenstellung dürfte genügen, um über die erhaltenen Resultate ein Bild zu bekommen. Ich begnüge mich aus diesem Grunde auch damit, nur einen Teil meiner Versuche mitzuteilen: die anderen verliefen durchaus im gleichen Sinne. Die Zusammenstellung gibt die Milligramme N an, welche den aus der Gesamtmenge von 50 mg Casein entstandenen Abbauprodukten entsprechen. Da sie alle ungefähr in der gleichen Größenordnung sind, im allgemeinen nur $^{1}/_{20}$ des angewandten Caseins ausmachen, das also im großen Überschuß vorhanden war, sind sie durchaus miteinander vergleichbar Die über den Kolumnen stehenden Zahlen entsprechen der anfangs angegebenen Versuchsanordnung. Mit Ausnahme einiger am Schluß mitzuteilender Versuche erfolgte die Belichtung ohne Zusatz eines Puffers.

Jodsalz	1 mg	2 mg	3 mg	4 mg	5 mg
n/5 K J . .	2,32	2,20	2,52	2,02	1,68
n/5 K J . .	2,63	2,80	2,40	2,45	2,02
n/1 K J . .	2,76	2,88	2,22	2,58	1,98
n/1 Li J . .	2,35	2,15	2,12	1,99	1,53
n/2 Li J . .	2,35	2,38	2,35	2,10	1,72
n/1 Rb J . .	2,10	2,17	2,12	1,74	1,50
n/1 Na J . .	2,10	1,99	2,03	1,86	1,56
n/1 Ba J_2 .	2,22	2,17	2,25	2,03	1,74
n/5 Ba J_2 .	2,25	2,33	2,16	1,92	1,71
2n Sr J_2 . .	2,72	1,86	1,83	1,83	1,92
n/1 Sr J_2 . .	2,27	1,71	1,73	1,71	1,81

In der vorigen Abhandlung war in einem Falle gezeigt worden, daß bei Belichtung bei saurer Reaktion unter Umständen die Verhältnisse klarer hervortreten können. Es wurde darum in einem Falle der Versuch so angeordnet, daß einerseits 11 ccm Pankreatinlösung mit der gleichen Menge einer m/15 Phosphatlösung von p_H 5,91 bzw. 7,85 vermischt wurden und die so gewonnenen Lösungen genau so verarbeitet wurden, wie es in den anderen Versuchen geschah. Für die Verdauung wurden die zur Caseinlösung zugegebenen Phosphatmengen so gewählt, daß bei beiden Serien die gleiche ($H^{\cdot}$) von 10^{-7} bestand. Es ergab sich kein Unterschied, wie nachfolgende Zusammenstellung zeigt.

p_H bei Belichtung	I mg	II mg	III mg	IV mg	V mg
5,91	2,22	2,10	2,18	1,76	1,38
7,65	2,02	2,08	2,10	1,72	1,47

Betrachtet man die Resultate beider Tabellen, so ergibt sich zunächst einwandfrei mit Ausnahme der beiden Versuche mit Sr J_2, daß die Hemmung der tryptischen Wirkung durch die Bestrahlung am größten ist, wenn die Fermentlösung ohne fremden Zusatz der Strahlenwirkung ausgesetzt wurde. Die Schädigung ist, mit den letztgenannten Ausnahmen, im Lichte erheblich verringert, wenn der Fermentlösung Jodsalz zugefügt worden war. Des weiteren ergibt sich, daß im allgemeinen es gar keinen Unterschied macht, ob man der im Dunkeln gehaltenen Fermentlösung belichtete oder unbelichtete Jodsalzlösung zufügt. Sieht man von einigen kleinen Differenzen ab, deren Ursprung vorläufig nicht ganz klar ist und die vielleicht zum Teil durch Versuchsfehler zu erklären sind, so sind die Dunkelwerte in sich im wesentlichen gleich. Der bei Bestrahlung unter Jodidzusatz erhaltene Wert steht in der Mitte zwischen diesen Dunkelwerten und den Werten, welche mit belichtetem Trypsin ohne Zusatz erhalten wurden. Es läßt sich dieses Verhalten wohl nur so erklären, daß die Jodidlösung einen gewissen Schutz gegenüber der Bestrahlung ausübt in ähnlicher Weise, wie dies bereits früher von *Pincussen* gezeigt worden ist. Von einer Schädigung durch freigesetztes Jod findet sich nirgends ein Anzeichen, wenn natürlich auch nicht auszuschließen ist, daß eine solche durch die Schutzwirkung überkompensierte Schädigung vorhanden sein kann. Etwas auffallend sind die Resultate mit Strontiumjodid. Hier ist gar kein Unterschied zwischen Lichtwirkung mit und ohne Salzzusatz, freilich auch kein Unterschied gegenüber den anderen Proben mit Salzzusatz, die dem Lichte nicht ausgesetzt waren. Letzteres Verhalten mag vielleicht auf einen Zufall zurückzuführen sein: evident ist immerhin das Fehlen einer Schutzwirkung.

Beiträge zur Biochemie der Avitaminosen.

Von

Alexander Palladin.

Nr. 3.

Blutfermente bei experimentellem Skorbut.

Von

P. Normark.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium des medizinischen Instituts zu Charkow.)

(Eingegangen am 16. September 1924.)

Im Leben eines jeden Organismus spielen die Fermente eine gewaltige Rolle. Wir wissen, daß verschiedene Veränderungen im Zustande des Organismus von Veränderungen in der Fermenttätigkeit begleitet sind bzw. durch dieselben hervorgerufen werden, und daß wir bereits jetzt in der Lage sind, in einer Reihe von Fällen aus den Veränderungen in der Fermenttätigkeit auf Veränderungen im Zustande des Organismus zu schließen und umgekehrt. Die weitere Aufklärung dieser Wechselbeziehungen wird uns allmählich den Mechanismus dieser oder jener Störungen der normalen Tätigkeit des Organismus aufdecken und die einen oder anderen Fragen der Physiologie und Pathologie beantworten.

Zur Aufklärung dieser Wechselbeziehungen werden sowohl die Fermente verschiedener Organe, als auch die Blutfermente untersucht. Gegenwärtig gibt es bereits zahlreiche Untersuchungen, die beweisen, daß verschiedene physiologische und pathologische Momente die Blutfermente beeinflussen, und zwar in bestimmter Weise. Derartige Angaben über Veränderungen in der Fermentzusammensetzung des Blutes bei einer Funktionsstörung dieses oder jenes Organs können viel dazu beitragen — und haben dies bereits getan —, die Rolle dieses Organs sowie dessen Wirkungsmechanismus auf die anderen Prozesse im Organismus aufzuklären.

Es ist daher von Interesse, die Blutfermente beim experimentellen Skorbut, bei dem, wie unsere Untersuchungen über den Kohlehydrat- und Kreatinstoffwechsel gezeigt haben, bestimmte Störungen in den Stoffwechselprozessen vorhanden sind, zu studieren.

Das Studium dieser Frage bietet ein um so größeres Interesse, als wir bezüglich eines der Blutfermente, der Amylase, wissen, daß sein Gehalt im Blute mit dem Verlauf der betreffenden Avitaminose in bestimmter Weise sich verändert [*A. Palladin*[1])]. Zweifelsohne ist die Fermenttätigkeit beim Skorbut verändert; hierauf weisen die Untersuchungen von *Dutcher*[2]) hin, der, allerdings bei einer anderen Avitaminose, der Polyneuritis, einen herabgesetzten Katalasegehalt in einer ganzen Reihe von Organen (Leber, Nieren, Pankreas, Herz, Brustmuskeln, Lungen) gefunden hat. Ob nun auch der Gehalt der anderen Blutfermente, außer der Amylase, beim Skorbut sich verändert, dies aufzuklären, war die Aufgabe der vorliegenden Untersuchung.

Für die quantitative Bestimmung der Blutfermente bei so kleinen Tieren, wie sie die Meerschweinchen sind, konnte man sich der Methoden, die große Blutmengen erfordern, nicht bedienen.

Wenn man sich dieser Methoden bedient und die Bestimmungen oft ausführt, so läuft man Gefahr, den Skorbut durch große Blutverluste zu komplizieren; um dies zu vermeiden, müßte die Blutentnahme selten vorgenommen werden, was wiederum nur drei bis vier Analysen während des ganzen Versuchs möglich machen würde. Daher wählten wir die Bestimmung der *Blutfermentzahlen* nach der Methode von *A. Bach*[3]). Wir bestimmten nach dieser Methode die Katalase, Protease, Peroxydase und Lipase.

Das Blut wurde den Ohren der Meerschweinchen entnommen. Das Ohrgefäß wurde angeschnitten, an den heraustretenden Blutstropfen die Spitze einer Pipette von 20 cmm Inhalt angelegt und in dieselbe das Blut bis zur Marke eingesogen. Unmittelbar darauf wurde das Blut quantitativ in ein Kölbchen gebracht, das 20 ccm destillierten Wassers enthielt. Von der so erhaltenen Blutlösung wurde für jede Bestimmung je 1 ccm verwandt, was 0,001 ccm Blut entspricht. Wenn wir nach der *Bach*schen Methode arbeiten, so bestimmen wir nicht die absoluten Fermentquantitäten, sondern nur einige relative Größen (*Fermentzahlen*), die auf Grund von streng bestimmten Bedingungen erhalten werden und, wie die Untersuchungen von *Bach* gezeigt haben, der direkte oder indirekte zahlenmäßige Ausdruck der Fermenttätigkeit sind. Wir verzichten auf eine genauere Beschreibung der Methodik und wollen nur darauf hinweisen, daß als *Fermentzahl der Katalase* diejenige, in Milligrammen ausgedrückte, Wasserstoffsuperoxyd-

---

[1]) *Alexander Palladin*, Beitr. zur. Biochem. der Avitaminosen, Nr. 1, diese Zeitschr. 1924.

[2]) *Dutcher*, Journ. of biol. Chem. **36**, 63, 1918.

[3]) *A. Bach* und *S. Zubkowa*, diese Zeitschr. **125**, 283, 1922.

menge gilt, die unter bestimmten Bedingungen durch 0,001 ccm Blut zersetzt wird, als ***Fermentzahl der Protease*** die in Milligrammen des Wasserstoffsuperoxyds ausgedrückte Aktivitätsverminderung der Katalase[1]) unter dem Einfluß von vorhergehendem Stehenlassen der Blutlösung im Thermostat bei 37°; als Fermentzahl der ***Peroxydase*** diejenige in tausendstel Milligrammteilen ausgedrückte Guajacolmenge, die durch 0,001 ccm Blut unter Mithilfe von Wasserstoffsuperoxyd oxydiert wird; als Fermentzahl der ***Esterase*** diejenige in tausendstel Milligrammteilen ausgedrückte Guajacolmenge, die durch 0,001 ccm Blut vom Guajacolester (Thiocol) abgespalten wird.

Die Fermentbestimmungen im Blute wurden nicht öfter als jeden zweiten Tag und nicht seltener als jeden fünften Tag vorgenommen. Zunächst wurde bei jedem Meerschweinchen die Norm festgestellt, d. i. der Fermentgehalt im Blute bei Fütterung desselben mit Hafer und Rüben. Darauf wurde diese Nahrung durch Hafer allein ersetzt und bei einer solchen Nahrung, in welcher das antiskorbutische Vitamin C fehlte, die Blutuntersuchung auf Fermente bis unmittelbar vor dem Eingehen der Tiere am Skorbut fortgesetzt. In Tabelle I ist das Versuchsprotokoll über ein Meerschweinchen von 680 g Gewicht, das am 27. Skorbuttage einging, angeführt.

Tabelle I.

Datum der Bestimmungen	Gewicht g	Fermentzahlen				Am wievielten Skorbuttag die Bestimmung ausgeführt wurde
		Katalase	Protease	Esterase	Peroxydase	
28. IX.	680	9,24	1,68	0,09	0,052	Norm
21. X.	640	9,18	1,68	0,09	0,057	Norm
25. X.	650	8,84	1,68	0,08	0,052	Norm
27. X.	640	9,01	1,34	0,09	0,052	Norm
2. XI.	645	9,46	1,79	0,08	0,052	
6. XI.	582	9,29	1,84	0,08	0,057	4. Skorbut
9. XI.	570	9,52	1,40	0,09	0,057	7. Skorbut
12. XI.	567	9,12	1,96	0,08	0,062	10. Skorbut
16. XI.	535	7,89	1,45	0,07	0,062	14. Skorbut
20. XI.	530	8,00	1,56	0,05	0,055	18. Skorbut
23. XI.	510	8,23	2,29	0,06	0,060	21. Skorbut
26. XI.	465	9,88	2,13	0,06	0,060	24. Skorbut
28. XI.	405	9,52	2,01	0,06	0,052	27. Skorbut
30. XI.	395	—	—	—	—	Exitus

Aus der Tabelle I ist ersichtlich, daß der Katalasegehalt im Blute beim Skorbut sich fast nicht verändert; die Schwankungen an den einzelnen Tagen sind im allgemeinen die gleichen wie auch bei normaler Nahrung. In einigen Versuchen sehen wir in der ersten Avitaminosewoche (s. Tabelle II) eine leichte Zunahme der Katalase. Die Proteasezahl bleibt in der ersten Zeit (bis zur Mitte oder Ende der dritten Woche) normal, zeigt jedoch später in der letzten Skorbutperiode, der Periode, in der „sichtbare" Skorbutsymptome auftreten, eine gewisse Steigerung.

[1]) Infolge Zerstörung derselben durch die Protease des Blutes.

Anders verhält es sich mit der Esterase. Ihr Gehalt im Blute bleibt während der ersten zwei Avitaminosewochen in den Grenzen des Normalen, nimmt jedoch dann ab, so daß in der dritten bis vierten Skorbutwoche der Esterasegehalt im Blute, wie aus ihren Fermentzahlen zu ersehen ist, niedriger als normal ist. Umgekehrt zeigt die Peroxydase zu Beginn des Skorbuts eine Abweichung von der Norm, und zwar eine Steigerung, während sie darauf fast zur Norm zurückkehrt.

Das gleiche Bild boten im allgemeinen auch die Untersuchungen der Blutfermente der anderen skorbutischen Meerschweinchen dar. In Tabelle II ist z. B. das Versuchsprotokoll eines anderen Meerschweinchens (Nr. 2), von ungefähr 600 g Gewicht, angeführt, bei dem der Skorbut 23 Tage dauerte.

Tabelle II.

Datum der Bestimmungen	Gewicht g	Fermentzahlen				Am wievielten Skorbuttag die Bestimmung ausgeführt wurde
		Katalase	Protease	Esterase	Peroxydase	
23. VIII.	616	9,352	1,808	0,10	0,050	Norm
24. VIII.	620	8,624	1,572	0,10	0,045	Norm
30. VIII.	602	9,296	1,736	0,10	0,050	Norm
5. IX.	602	8,848	1,680	0,10	0,050	Norm
9. IX.	535	9,352	1,344	0,10	0,055	3. Skorbut
11. IX.	535	10,080	1,650	0,10	0,068	7. Skorbut
16. IX.	506	9,184	1,680	0,09	0,065	12. Skorbut
18. IX.	490	9,352	1,792	0,09	0,057	14. Skorbut
21. IX.	445	8,848	1,720	0,09	0,060	15. Skorbut
23. IX.	412	3,352	1,792	0,08	0,052	17. Skorbut
25. IX.	373	9,968	2,464	0,09	0,057	21. Skorbut
27. IX.	340	—	—	—	—	23. Exitus

Bei diesem Meerschweinchen finden wir die oben erwähnte leichte Erhöhung des Katalasegehaltes im Blute in den ersten Skorbuttagen; vielleicht läßt sich diese Mengenzunahme der Katalase in Beziehung bringen zu den Angaben von *Bedson*[1]), der gefunden hat, daß zu Beginn des Skorbuts bei Meerschweinchen der Erythrocytengehalt erhöht ist. Darauf schwankt während der ganzen Zeit der Katalasegehalt im Blute innerhalb der Grenzen des Normalen. Der kurz vor dem Tode auftretende Proteaseanstieg ist bei diesem Meerschweinchen weniger ausgesprochen, vielleicht infolge seines schnellen Todes. Bei den anderen Meerschweinchen war dieser Anstieg stärker ausgeprägt, so z. B. war beim Meerschweinchen Nr. 4, von 465 g Gewicht, die Fermentzahl der Protease in der Norm und zu Beginn des Skorbuts = 1,68 bis 1,90, während er in der Zeit vom 17. bis 19. Skorbuttage = 2,91 bis 2,68

[1]) *Bedson*, Brit. med. Journ. 1921; zitiert nach Zentralbl. f. inn. Med. Nr. 23, 1922.

war. Auch dieser Versuch zeigt uns eine Herabsetzung des Esterasegehaltes in der zweiten Hälfte der Skorbutperiode (von der dritten Woche an). Bei den anderen Meerschweinchen war sie noch stärker ausgesprochen, so z. B. fiel beim Meerschweinchen Nr. 7, von 495 g Gewicht, die Fermentzahl der Esterase von 0,083 bis 0,087 (in der Norm und zu Beginn des Skorbuts) auf 0,069 bis 0,062 (in der Zeit vom 21. bis 26. Skorbuttage).

Der Peroxydasegehalt ist auch hier, wie fast in allen übrigen Versuchen, mehr oder weniger stark erhöht in der ersten Skorbutwoche (von 0,045 bis 0,050 auf 0,068 oder von 0,055 bis 0,068 auf 0,075), um dann fast zur Norm herabzugehen.

Wir sehen also, daß die von uns untersuchten Blutfermente Veränderungen beim Skorbut erfahren. Diese Veränderungen sind zwar nicht sehr stark ausgesprochen, wiederholen sich aber bei sämtlichen Versuchstieren. Am *konstantesten* erweist sich die *Katalase*; ihre Fermentzahlen verändern sich nur in sehr geringem Grade.

Diese unsere Resultate können denjenigen von *Kolzow* und *Elisarowa*[1]) parallel gestellt werden, welche gefunden haben, daß der Katalasegehalt im Blute der Meerschweinchen durch eine außerordentliche Konstanz sich auszeichnet. Diese Autoren halten es für zweckmäßig, sämtliche Meerschweinchen nach ihrem Katalasegehalt im Blute in mehrere Gruppen (vier) einzuteilen. Unsere Meerschweinchen würden also derjenigen Gruppe zuzuzählen sein, die den höchsten Katalasegehalt aufweist. Nach den Angaben von *Kolzow* „läßt sich durch keine äußere Einflüsse oder Erkrankungen eine auch nur irgendwie bedeutende Veränderung des Katalasegehaltes hervorrufen". Auch der Skorbut ist anscheinend nicht imstande, bedeutende Veränderungen des Katalaseindikators hervorzurufen.

Gleichzeitig mit der Katalase tritt zu Beginn des Skorbuts auch eine Erhöhung des Peroxydasegehaltes auf. Groebbels[2]) fand bei einer anderen Avitaminoseform, der Polyneuritis der Mäuse, daß im Anfang der Avitaminose der Gasaustausch erhöht ist (die Oxydationsprozesse sind verstärkt), um dann unter die Norm zu sinken.

Entsprechend den Angaben von *Dutcher* über eine starke Herabsetzung des Katalasegehaltes in den Organen bei der Polyneuritis könnte man auch bei unserer Avitaminose ein ebensolches starkes Sinken der Blutkatalase am Ende des Skorbuts erwarten. Dem ist jedoch nicht so. Ob nun die Ursache hiervon in dem Unterschied zwischen der Polyneuritis und dem Skorbut oder darin zu suchen ist, daß die Meerschweinchen durch eine Konstanz ihrer Blutkatalase von

---

[1]) *Kolzow*, Priroda 1921 (russisch).

[2]) *Groebbels*, Hoppe-Seylers Zeitschr. 122, 108, 1922.

anderen Tieren, bei denen viele Untersucher (z. B. *Burge*) starke Veränderungen im Katalasegehalt des Blutes unter dem Einfluß verschiedener Momente gefunden haben, sich unterscheiden, hierauf läßt sich vorläufig keine bestimmte Antwort geben.

Am konstantesten ist beim Skorbut die Erhöhung der Esterase, und zwar gegen Ende des Skorbuts, wo bereits klinisch Skorbutsymptome auftreten, wo infolge davon, daß die Zellen immer mehr und mehr die Fähigkeit verlieren, das für sie nötige Material, in erster Reihe die Kohlehydrate, auszunutzen, das gesamte Vorratsmaterial aufgebraucht ist und der Organismus zu hungern anfängt.

In eben dieser letzten Skorbutperiode, wo zu der eigentlichen Avitaminose noch das Hungern hinzutritt (unter anderem infolge der verminderten Nahrungsaufnahme) *ist der Proteasegehalt im Blute erhöht.* Diese Zunahme des Proteasegehaltes läßt sich in Beziehung bringen zu den Angaben über vermehrte proteolytische Kraft des Blutserums im vorgerückten Hungerstadium[1]) [vgl. *Heilner* und *Poensgen*[2]), sowie *Jobling* und *Peterson*[3])]. Von allen Blutfermenten aber ist die Amylase dasjenige, auf welches der Skorbut den größten Einfluß ausübt, da der Kohlehydratumsatz beim Fehlen des „Vitamins C" in erster Reihe beeinträchtigt wird.

---

[1]) Bei vollkommenem Nahrungsmangel.

[2]) *Heilner* und *Poensgen,* Münch. med. Wochenschr. **61**, 402, 1914.

[3]) *Jobling* und *Peterson,* Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Ther. **24**, 219, 1915.

Über die serochemischen Veränderungen während Schwangerschaft, Geburt und Wochenbett.

Von

Tadasu Shinoda (Tokio).

(Aus dem serochemischen Institut der kaiserlichen Universität zu Tokio.)

(Eingegangen am 16. September 1924.)

Inhaltsverzeichnis.

1. Einleitung.

Zwar werden Schwangerschaft, Geburt und Wochenbett als physiologische Vorgänge aufgefaßt, doch darf man nicht außer acht lassen, daß dabei verschiedenartige Veränderungen sowohl organischer als auch funktioneller Natur in einzelnen Organen auftreten, die pathologischen ähneln und Resistenzverminderung gegen gewisse Infektionskrankheiten zur Folge haben können. Was diese Abweichung der Funktion anbetrifft, so sind hierfür zweierlei Ansichten vorherrschend.

Während der Fortpflanzungsphase müssen verschiedene Organe der Mutter entweder über die Norm arbeiten oder solche Funktionen, die ihnen normalerweise nicht zur Last fallen, ausführen, was natürlich zur Verminderung der Reservekraft führt, so daß eine Resistenz-

verminderung eintritt. Auf diese Weise kann ein äußerer Eingriff leicht zur Funktionsinsuffizienz Anlaß geben, wodurch eine Regulationsstörung im Mutterorganismus herbeigeführt werden kann.

Es ist plausibel, daß der Stoffwechsel des mütterlichen Körpers lebhafter wird, so daß man von einer Protoplasmaaktivierung sprechen kann, die schließlich zu einer Resistenzerhöhung und Aktivierung von Abwehreinrichtungen führen kann.

Um dem Wesen dieser Sache auf die Spur zu kommen, ist es unerläßlich, die biologische Reaktion im mütterlichen Organismus in verschiedenen Stadien der Schwangerschaft und des Wochenbettes näher zu erforschen; da es von großem Interesse sein dürfte, die genannte Frage klarzustellen, so befaßte ich mich mit der Untersuchung über die quantitative Veränderung mehrerer Serumbestandteile in verschiedenen Stadien und über die Beeinflußbarkeit der natürlichen Abwehreinrichtungen während der Fortpflanzungsvorgänge.

Versuchsmaterial.

Zu meinen Versuchen verwendete ich ausschließlich Kaninchen, die immer mit einer bestimmten Nahrung gefüttert, und deren Befinden, Appetit, Stuhl und Körpergewicht genau kontrolliert wurden.

Wenn ich in den folgenden Experimenten nichts Besonderes bemerke, so nähren alle Versuchskaninchen ihre Jungen nicht. Die Trächtigkeit des Kaninchens dauert im allgemeinen 30 Tage, das Puerperium ist nach etwa 7 Tagen vollendet. Das Gesamtgewicht des Wurfes und die Vergrößerung des trächtigen Uterus sind sehr variabel, je nach der Zahl der befruchteten Eier. Wir haben aber kennengelernt, daß bei Kaninchen in den meisten Fällen das durchschnittliche Körpergewicht des Wurfes ein Zehntel des eigenen beträgt, und daß das Gewicht der Gebärmutter von 2,4 g in der nicht trächtigen Zeit direkt nach der Entbindung 53,0 g erreicht, also 22mal so viel wie in der normalen Zeit beträgt.

Beim Menschen beträgt das Gewicht des Neugeborenen etwa $^1/_{16}$ des mütterlichen und die Gebärmutter wiegt gleich nach der Entbindung etwa 1 kg, das ist 22mal so viel wie zur normalen Zeit, welches Verhältnis auch beim Kaninchen nachgewiesen worden ist.

2. Reststickstoff.

Die Stoffwechselsteigerung während der Schwangerschaft, der Geburt und des Wochenbettes ruft Bildung verschiedener giftiger Spaltprodukte wach. Namentlich im Wochenbett wird eine größere Menge von Eiweißzerfallprodukten als bei der Schwangerschaft gebildet, weil die enorm vergrößerte Gebärmutter, die beinahe ausschließlich aus Muskelgewebe besteht, innerhalb weniger Wochen nach der Geburt

prompt involiert. Durch die lange Dauer des Kampfes gegen diese Stoffwechselprodukte und durch die vermehrte Tätigkeit während dieser Periode droht die Gefahr, daß die verschiedenen Organe des mütterlichen Körpers im Kampfe gegen die Autotoxine unterliegen, und daß die Überanstrengung zu einer Insuffizienz ihrer Funktion führen kann. Wenn die Leber und die Niere in der Schwangerschaft und dem Puerperium wirklich insuffizient werden, so müssen sich die giftigen Eiweißspaltprodukte, die ohnedies schon reichlich gebildet werden, im Blute häufen. Also habe ich zunächst die Schwankung des Reststickstoffgehaltes bei normaler Schwangerschaft, Geburt und Puerperalzeit und dann den Einfluß des involierenden Uterus auf die Reststickstoffmenge des Blutes untersucht.

Was den Reststickstoff während der Schwangerschaft und des Wochenbettes anbelangt, so gibt es nur wenige Untersuchungen, die sogar für meine Vermutung, daß der Rest-N in den genannten Stadien im Blute vermehrt sein müsse, durchaus nicht sprechen. Nach *Faar* und *Williams*[1]) und *Losee*[2]) vermehren sich der Rest- und Urea-N des Schwangerenblutes nicht, und schwanken zwischen 21 und 31 mg pro 100 ccm. *Slemons*[3]) beobachtete auch keine Zunahme des gesamten Rest-N- und Urea-N-Gehaltes sowohl vor als auch nach der Geburt. Nach *Folin*[4]) ist der Urea-N des Schwangerenblutes vermindert gegenüber dem des nicht graviden. Insbesondere gibt es keine Angabe über den Einfluß des involierenden Uterus auf den Rest-N-Gehalt. Der gesteigerte Eiweißzerfall im puerperalen Uterus wird gegenwärtig nur deswegen vermutet, weil eine vermehrte Ausscheidung des Stickstoffs im Harn nach der Geburt eintritt[5]).

Durch Vorversuche bestätigte ich, daß der gesamte Reststickstoff des normalen, nicht trächtigen Kaninchens durchschnittlich 32,3 mg pro 100 ccm Serum beträgt und individuell von 24,7 bis 41,1 mg schwankt. Beim gleichen Tiere schwankt der Gehalt um 10 bis 18, höchstens 30 Proz. Um den Reststickstoffgehalt und dessen Schwankung im Laufe der Schwangerschaft und der Puerperalzeit genau zu studieren, wurden 26 normale Kaninchen im Verlaufe ihrer Gravidität in verschiedenen Trächtigkeitsstadien untersucht. In sechs Fällen wurde der puerperale Uterus vollkommen exstirpiert und in anderen sechs Fällen alle zugehörigen Gefäße des Uterus unterbunden, um den Einfluß des involierenden Uterus auszuschalten. Diese Operation wurde möglichst früh nach der Entbindung, spätestens nach 24 Stunden vorgenommen.

---

[1]) *Faar* und *Williams*, Amer. Journ. Med. Soc. **147**, 556, 1914.

[2]) *Losee*, Bull. Lying-In Hosp. New York **12**, 1919—1920.

[3]) *Slemons*, Bull. Johns Hopk. Hosp. **27**, 1916; Journ. f. biol. Chem. **32**, 63, 1917.

[4]) *Folin*, Journ. Amer. Med. Ass. **69**, 1917.

[5]) *Slemons*, Bull. Johns Hop. Hosp. **25**, 1914; *Dietrich*, Zentralbl. f. Gyn. **13**, 213, 1889; *Murlin* und *Bailey*, Journ. Amer. Med. Ass. **59**, 1522, 1912; Arch. f. intern. Med. **12**, 1913; *Hahle*, Arch. f. Gyn. **75**, 1905.

Das Resultat der Experimente ist folgendes:

1. Während der normalen Schwangerschaft, abgesehen von einigen Tagen vor der Geburt, wird keine Vermehrung des gesamten Reststickstoffgehaltes im Blutserum bei Kaninchen nachgewiesen, was mit dem von *Faar* und *Williams*, *Losee* und *Slemons* gefundenen Resultat beim Menschen übereinstimmt.

2. Nur an den letzten Schwangerschaftstagen, nämlich 1 oder 2 Tage kurz vor der Geburt, bemerken wir in den meisten Fällen eine ziemlich bedeutende Vermehrung des Reststickstoffs. Der Prozentsatz des letzteren beträgt zwischen 30 bis 100 Proz., im Mittel 42 Proz.

3. Diese Reststickstoffvermehrung ist bei und nach der Geburt am ausgeprägtesten. Bei allen Fällen ist der Prozentsatz der Vermehrung des Reststickstoffgehaltes zwischen 40 und 120 Proz., durchschnittlich 64 Proz., wobei einige Tiere sogar 70 bis 80 mg pro 100 ccm aufweisen.

4. Während des Puerperiums dauert diese beträchtliche Vermehrung an, kehrt jedoch im Laufe von 7 bis 10 Tagen zum normalen Werte zurück. Der Prozentsatz der Vermehrung im Puerperium beträgt 30 bis 90 Proz., durchschnittlich etwa 40 Proz. Die Zeit, die zur Rückkehr der Reststickstoffmenge auf den normalen Wert benötigt wird, ist beinahe gleich der zur Involution des Uterus erforderlichen.

5. Wenn wir kurz nach der Geburt entweder den Puerperaluterus exstirpieren oder die zu- und abführenden Uterusgefäße total unterbinden, so kommt die sonst auftretende Vermehrung des Reststickstoffs nur ganz unbedeutend zum Vorschein. Oft ist sie 24 Stunden nach der Operation überhaupt nicht mehr nachweisbar.

Nach dem Resultat dieses Versuchs ist es nicht zu bezweifeln, daß der Puerperaluterus bei seiner Involution eine reichliche Menge von Eiweißspaltprodukten in den Kreislauf gelangen läßt.

6. Drei Kaninchen nährten ihre Jungen in der Puerperalzeit und weiter darüber hinaus. Doch ließ sich kein Unterschied des Reststickstoffgehaltes zwischen den säugenden und den nicht säugenden Tieren bemerken.

8. Antitryptische Kraft.

Wenn auch die Ansichten über die Natur der antitryptischen Fähigkeit des Serums noch sehr weit auseinander gehen, so stimmen sie doch darin fast überein, daß sie sowohl im Versuch als auch bei Krankheiten im allgemeinen immer da zunimmt, wo sich Steigerung des parenteralen Eiweißzerfalls findet.

Rosenthal[1]) konnte mit aller Bestimmtheit nachweisen, daß die Anwesenheit von Eiweißabbauprodukten im Serum diesem die Fähigkeit

---

[1]) *Rosenthal*, Folia serolog. 1910; Zeitschr. f. klin. Med. 72, 1911.

verleiht, die Trypsinverdauung zu hemmen. *Rusznia*k[1]) konnte auch nachweisen, daß die Erhöhung des antitryptischen Serumtiters ein ganz konstantes Symptom des anaphylaktischen Schocks ist. Er folgert aus den Versuchen von *Rosenthal*, *Pfeiffer* und *Mita*[2]) wohl mit Recht, daß die Schocksymptome bei der Anaphylaxie durch Eiweißabbauprodukte bedingt sind, welche bei einer abnorm schnellen parenteralen Fermentation von Eiweiß entstehen. Obgleich einige negative Untersuchungsergebnisse von *Seligmann*[3]), *Meyer*[4]) und *Ando*[5]) in dieser Beziehung mitgeteilt worden waren, so wurde der mit dem anaphylaktischen Schock analoge Anstieg des antitryptischen Vermögens des Blutserums auch bei verschiedenen Formen von Eiweißzerfallstoxikosen behauptet. [*Pfeiffer* und *Jarisch*[6]), *Pfeiffer* und *Crinis*[7]) u. a. m.]

Im vorigen Kapitel wurde schon darauf hingewiesen, daß sich der Reststickstoffgehalt des Kaninchenserums in den Stadien vor und nach der Geburt auffallend vermehrt, und daß der Grund hierfür in dem reichlichen Eiweißzerfall im mütterlichen Körper, besonders im involierenden Uterus, zu suchen ist. Es ist deshalb für unsere Auffassung prinzipiell wichtig, nachzuweisen, daß sich bei der Involution des graviden Uterus und bei den anaphylaktischen bzw. der Eiweißzerfallstoxikose gleichsinnige Änderungen im Antitrypsingehalt des Blutes finden.

Der Antitrypsingehalt des mütterlichen Serums in der Schwangerschaft und während des Wochenbettes wurde von verschiedenen Forschern, wie *Gräfenberg*[8]), *Becker*[9]), *Jochmann*[10]), *Müller*[11]), *Rosenthal*[12]), *Franz*[13]), *Heide* und *Kroving*[14]), *Shibata*[15]) u. a. untersucht. Das Resultat der Untersuchungen ist, daß im allgemeinen der antitryptische Serumtiter in der Gravidität, besonders in der letzten Hälfte, mäßig ansteigt, während der Geburt selbst am deutlichsten, um dann innerhalb 7 bis 10 Tage nach der Entbindung allmählich zur Norm zurückzukehren.

Nach *Liepmann*[16]) soll jedoch bei trächtigen Kaninchen und Kühen der Antitrypsintiter nicht erhöht sein.

---

[1]) *Rusznia*k, Deutsch. med. Wochenschr. 4, 1912.
[2]) *Pfeiffer* und *Mita*, Zeitschr. f. Immunforsch. 4, 1909; 6, 1910.
[3]) *Seligmann*, ebendaselbst 14, 419, 1912.
[4]) *Meyer*, ebendaselbst 19, 179, 1913.
[5]) *Ando*, ebendaselbst 18, 1913.
[6]) *Pfeiffer* und *Jarisch*, Zeitschr. f. Immunforsch. 16, 38, 1913.
[7]) *Pfeiffer* und *Crinis*, ebendaselbst 17, 459, 1913.
[8]) *Gräfenberg*, Münch. med. Wochenschr. 56, 14, 1909.
[9]) *Becker*, ebendaselbst 56, 22, 1909.
[10]) *Jochmann*, ebendaselbst 1906, S. 29, 31, 41; Arch. f. Gyn. 89, 1909.
[11]) *Müller*, Zeitschr. f. Gyn. 52, 124, 1904.
[12]) *Rosenthal*, Zeitschr. f. klin. Med. 72, 1911; Berl. klin. Wochenschr. 1913, S. 25.
[13]) *Franz*, Wien. klin. Wochenschr. 1912, S. 39; Arch. f. Gyn. 102, 1914.
[14]) *Heide* und *Krosing*, Zeitschr. f. Geb. u. Gyn. 67, 1910.
[15]) *Shibata*, Nippon Fujinka-Gakkai Zasso 12, 1917.
[16]) *Liepmann*, Handb. d. Frauenheilkunde, 3. Aufl., 1914, S. 143.

Zur Antitrypsinbestimmung wurde die *Gross-Fuld*sche Methdoe[1]) verwendet.

Nach meinen Versuchen an 13 trächtigen Kaninchen liegen die Verhältnisse folgendermaßen:

1. Eine nennenswerte Steigerung des antitryptischen Serumtiters, die viele Forscher beim Menschen in der Schwangerschaft, namentlich in der letzten Hälfte gefunden haben, konnte ich beim Kaninchen, abgesehen von der kurzen Zeit vor der Geburt, nicht nachweisen. Die antitryptische Kraft des Kaninchenserums während der normalen Gravidität ist gleich der gewöhnlichen Serums.

2. Die Antitrypsinvermehrung tritt im allgemeinen erst einige Tage vor der Entbindung im mäßigen Grade auf und erreicht nach der Geburt ausnahmslos den höchsten Punkt. Dann fällt die antitryptische Kraft mit dem Verlauf des Puerperiums allmählich wieder ab und kehrt etwa 7 Tage nach der Geburt zum normalen Werte zurück.

3. Auch bei der Frühgeburt macht sich die Antitrypsinvermehrung deutlich bemerkbar, und zwar ist sie beinahe gleich der bei einer normalen Geburt beobachteten. Während der wehenlosen Pause zwischen der Früh- und Normalgeburt fällt der Titer einstweilen ab, aber nach der zweiten, eigentlichen Entbindung steigt er von neuem an.

4. In zwei Fällen, wo die Tiere ihre Jungen im Puerperium nährten, konnte ich bezüglich der antitryptischen Kraft nichts Besonderes im Vergleich mit den nicht säugenden Tieren finden.

5. Vergleichen wir aus den bisherigen Versuchen die Schwankungen des antitryptischen Serumtiters und des Reststickstoffgehaltes vor und nach der Geburt, so läßt sich ein Parallelismus zwischen beiden im großen und ganzen nachweisen, was mit der *Rosenthal*schen Angabe wohl übereinstimmt. Jedoch bemerkte ich bei anderen abnormen Körperzuständen, wie z. B. akuter eitriger Entzündung, Peritonitis, Durchfall, starker Anämie und chylösem Serum, bei welchen ich den antitryptischen Serumtiter und den Reststickstoffgehalt an einem und demselben Tiere gleichzeitig untersucht habe, keinen Parallelismus zwischen beiden. In vier Fällen wurde der Reststickstoffgehalt auf das Doppelte des normalen Zustandes vermehrt, und doch blieb der Antitrypsintiter dabei fast unverändert. Im Gegenteil bemerke ich, daß in anderen fünf Fällen der antitryptische Serumtiter außerordentlich gesteigert war, während der Reststickstoffgehalt zur gleichen Zeit unverändert blieb oder sogar vermindert war.

In drei anderen Fällen, bei welchen direkt nach der Entbindung der puerperale Uterus ausgeschaltet wurde, fiel der antitryptische Serumtiter nicht ab, sondern stieg nach der Operation an, während

[1]) *Gross* und *Fuld*, Arch. f. exper. Pathol. u. Ther. 58, 1907.

die puerperale Reststickstoffzunahme in diesen Fällen fast nicht mehr nachgewiesen wird.

Demnach muß ich die *Rosenthal*sche Angabe, daß das antitryptische Vermögen des Serums nur durch den Reststickstoffgehalt bedingt würde, bezweifeln.

4. Blutzucker.

Bei parenteraler Einverleibung von Eiweißzerfallsprodukten, wie z. B. bei Peptoninjektion, wird Erhöhung des Blutzuckergehaltes bei gewissen Tieren (Kaninchen), bei welchen die Schocksymptome geringfügig sind, nachgewiesen [*Kuriyama*, *Tachigara*, *Mizuhara*[1])]. Obwohl das Wesen der erhöhten Resistenz des hyperglykämisch gemachten Tieres noch nicht völlig geklärt ist, kann es doch wohl angenommen werden, daß die Hyperglykämie eine gewisse Abwehrreaktion des Organismus gegen verschiedene Giftwirkungen darstellt. In der Tat ist der Blutzucker nicht nur eine Energiequelle, sondern dient auch als Schutzsubstanz gegen verschiedene Gifte, besonders gegen Organgifte und Bakterientoxine.

Ich habe schon in den vorhergehenden Versuchen bestätigt, daß bei Geburt und Puerperium beim Kaninchen ein außergewöhnlich gesteigerter und Eiweißzerfall stattfindet. Also ist es interessant zu untersuchen, ob der Blutzucker bei solchen Zuständen, wo eine parenterale Resorption von reichlichen Eiweißzerfallsprodukten stattfindet, denselben quantitativen Veränderungen unterworfen ist wie bei der Peptonvergiftung oder beim anaphylaktischen Schock.

Mit dem Studium über den Blutzuckergehalt während der Schwangerschaft und der Geburt haben sich schon verschiedene Forscher beschäftigt. Die Untersuchungen von *Benthin*[2]), *Ryser*[3]), *Morris*[4]), *Borchardt*[5]), und *Heynemann*[6]) lassen sich im allgemeinen wie folgt zusammenfassen: Der Blutzuckergehalt in der Gravidität bewegt sich in normalen Grenzen. Eine gesetzmäßige Zu- oder Abnahme ist nicht zu konstatieren. In der Geburt aber, speziell in der Austreibungsperiode, steigt der Zuckergehalt. Manchmal ist der Aufstieg nur gering gegenüber den ante partum gefundenen Werten. In anderen Fällen kommt es zu einem Ansteigen des Blutzuckers weit über die Norm hinaus, es besteht eine erhebliche Geburtshyperglykämie, die durch Muskelarbeit verursacht sein kann. Im Wochenbette pflegt der Blutzucker rasch wieder zur Norm abzusinken.

---

1) *Kuriyama*, Journ. f. biol. Chem. **29**, 127, 1917; *Tachigara*, Nippon Naika-gakkai Zasshi **77**, 1920; *Mizuhara*, Mitt. d. med. Ges. zu Tokio **34**, 1920.

2) *Benthin*, Zeitschr. f. Geb. u. Gyn. **69**, 1911; Deutsch. med. Wochenschrift **39**, 1913; Monatsschr. f. Geb. u. Gyn. **37**, 1913.

3) *Ryser*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **118**, 408, 1916.

4) *Morris*, Bull. Johns Hopk. hosp. **28**, 1917.

5) *Borchardt*, aus Bergsma Zeitschr. f. Geb. u. Gyn. **72**, 105, 1912.

6) *Heynemann*, Zeitschr. f. Gyn. **71**, 1912.

Beim trächtigen Kaninchen bemerkten *Kito*[1]) und *Schirokauer*[2]) Vermehrung des Blutzuckergehaltes auch in der letzten Hälfte der Gravidität, namentlich gegen Ende derselben.

Nach meinen Versuchen ergaben sich die folgenden Resultate:

1. In der größten Mehrzahl der Fälle, die sowohl in der Schwangerschaftsmitte als auch kurz vor der Geburt untersucht wurden, ist die Menge des Blutzuckers nicht vermehrt. Nur einige Fälle zeigen am Ende der Schwangerschaft ganz leichte Vermehrung. Nach diesen Resultaten kann man nicht aussagen, daß sich der Blutzucker des trächtigen Kaninchens, wie die Angaben von *Kito* und *Schirokauer* besagen, vermehrt, sondern es wäre wohl besser anzunehmen, daß der Blutzuckergehalt des graviden Kaninchens dem des nicht graviden gleich ist, was auch beim Menschen von vielen Forschern bestätigt worden ist.

2. Im Puerperium aber, namentlich in den ersten beiden Tagen nach der Entbindung, scheint der Blutzuckergehalt in den meisten Fällen zu steigen, wenn er sich auch nur innerhalb der physiologischen Grenzen hält. Im Gegenteil dazu zeigen einige andere Fälle (auch bei zwei säugenden Tieren) keine Vermehrung des Blutzuckers, sondern eine normale Menge während der ganzen Dauer des Puerperiums.

3. Die Durchschnittsmenge des Blutzuckers am ersten Tage des Puerperiums, also innerhalb 24 Stunden nach der Geburt, beträgt 0,131 g pro 100 ccm, während die des dritten bzw. vierten Puerperaltages sich auf 0,128 g pro 100 ccm beläuft, um bald zur Norm (0,124 g pro 100 ccm) zurückzukehren.

Wir dürfen also die leichte Hyperglykämie im frühen Puerperium als eine Reaktion des Mutterorganismus gegenüber akuter Resorption von Eiweißzerfallsprodukten ansehen. Da aber diese Spaltprodukte, im Vergleich zu dem Falle bei der Pepton- oder Organgiftinjektion, weder so prompt noch so hochgradig einwirken, so hält sich die Hyperglykämie in physiologischen Grenzen oder fehlt ganz.

5. Freies Cholesterin.

So viel über die chemischen Eigenschaften des Cholesterins bekannt ist, so wenig wissen wir über seine biologische Bedeutung, obgleich derselben in der Biochemie immer eine wichtige Stellung eingeräumt worden ist. Das Cholesterin bildet mit dem Lecithin einen wichtigen Hauptbestandteil der äußeren Hülle der Erythrocyten und der Gewebszellen und spielt daher in den verschiedensten Lebensfunktionen des

[1]) *Kito*, Mitteil. d. med. Ges. zu Tokio **34**, 1920.
[2]) *Schirokauer*, Berl. klin. Wochenschr. **11**, 1912.

Organismus eine wichtige Rolle. Es sei noch hervorgehoben, daß dem Cholesterin eine gewisse hemmende oder paralysierende Wirkung gegenüber nonspezifischer Hämolyse, wie der durch *Saponin*[1]) hervorgerufenen, zukommt, während solche dem Lecithin fehlt. Diese Schutzkraft des Cholesterins macht sich auch gegen andere in analoger Weise wirkende hämolytische Stoffe geltend, wie z. B. Tetanolysin[2]), Schlangen-, Spinnen- und Bienengift[3]), und ist auch von biologischer Bedeutung, weil die Hemmung der Hämolyse durch Blutserum höchstwahrscheinlich auf das Vorhandensein von freiem Cholesterin zurückzuführen ist. Es tritt leicht mit Saponin in Verbindung, wodurch dieses seine hämolytische Eigenschaft einbüßt (*Ransom*). Vermehrung des freien Cholesterins im Blute ruft Steigerung der Schutzkräfte hervor, andererseits die Verminderung desselben Abschwächung. Somit kann man wohl annehmen, daß das freie Cholesterin im Blute eine gewisse Schutzwirkung gegenüber verschiedenen bakteriellen oder anderen Giftstoffen im Körper zu entfalten vermag[4]).

Wenn wir nun die vielfachen Angaben über die sogenannte *Schwangerschaftshypercholesterinämie* genau ansehen, so finden wir, daß *Lipoidämie* und *Cholesterinesterämie* während der letzten Hälfte der Gravidität sowohl bei Menschen als auch bei Tieren in der Tat zustande kommen. Sichere Angaben über das Verhalten des *freien Cholesterins* während Schwangerschaft und Puerperium sind kaum vorhanden.

Nur einige Autoren [*Huffmann*[5]), *Bloor* und *Knudsen*[6])] beschäftigten sich auch mit freiem Cholesterin, konnten aber eine Veränderung in der Schwangerschaft nicht feststellen. Nach *Herrmann* und *Neumann*[7]) tritt eine leichte Verminderung des freien Cholesterins im Blute Schwangerer ein. *Slemons*[8]) kam beim Vergleich des Mutter- und Neugeborenenblutes zum Schluß, daß die Menge des *freien* Cholesterins bei beiden immer gleich sei, obgleich die *Cholesterinestermenge* des Mutterblutes vor und nach der Geburt sich erheblich vermehre und die des fötalen Blutes im Gegenteil dazu fast null oder doch minimal sei.

---

[1]) *Ransom*, Deutsch. med. Wochenschr. **27**, 194, 1901.

[2]) *Noguchi*, Zentralbl. f. Bakt. **37**, 367, 1906.

[3]) *Abderhalden* und *Le Count*, Arch. f. exper. Pathol. u. Ther. 1905/06, **2**; *Eisler*, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther. **3**, 1906; *Pribram*, diese Zeitschr. **1**, 1906; *Fraser* und *Gardner*, Proc. Roy. Soc. London, Ser. B, **81**, 1909; *Cole*, Journ. f. exper. Med. **207**, 1914.

[4]) *Frosier* und *Hubert*, aus *Brinkmann* und *E. van Dam*, diese Zeitschr. 108, 1920; *Landsteiner*, Handb. d. Biochem. II, **1**, 444.

[5]) *Huffmann*, Zentralbl. f. Gyn. **3**, 33, 1915.

[6]) *Bloor* und *Knudson*, Journ. of biol. Chem. **29**, 7, 1917; **27**, 1916.

[7]) *Herrmann* und *Neumann*, diese Zeitschr. **43**, 49, 1912.

[8]) *Slemons*, Amer. Journ. Obst. **75**, 1917.

Methodik.

Zwar erkenne ich auch die Tatsache an, daß die Entgiftung des Saponins durch Cholesterin, wie schon *Frei*[1]) hervorhebt, nicht dem Gesetz der konstanten, multiplen Proportionen folgt, doch kann folgende Methode in der Tat zum Vergleich als hinreichend genau angesehen werden. Auch *Pribram*[2]), *Fraser* und *Gardner*[3]), *Port*[4]) und *Wacker* und *Hueck*[5]) haben schon diese Methode als zuverlässig für die Vergleichung des relativen Gehaltes von freiem Cholesterin im Serum empfohlen.

Die antisaponische Kraft des Serums wird folgenderweise untersucht: Aufsteigende Dosen von 10proz. verdünntem Serum werden in eine Reihe von Reagenzgläschen verteilt, welchen hierauf eine entsprechende Menge von 0,85proz. NaCl-Lösung zugefügt wird, um den Inhalt jedes Gläschens auf 1 ccm zu bringen. Dann werden alle Gläschen mit je 1 ccm 0,01proz. Saponinlösung [0,0001 g[6])] versetzt. Das Gemisch läßt man nun 15 Minuten lang im Brutofen bei 37° C stehen und setzt schließlich 0,5 ccm 5proz., gewaschener Kaninchenblutkörperchen-Aufschwemmung zu. Nach vorsichtiger aber guter Mischung läßt man alle Gläschen nochmals 1 Stunde im Brutschrank bei 37° C stehen und liest das Resultat ab.

Auf diese Weise bestimmte ich serienweise bei 11 nicht trächtigen (als Kontrolle) und 13 trächtigen Kaninchen die minimale Serummenge, welche die Wirkung von 0,0001 g Saponin vollständig aufzuheben vermag, wobei das folgende Resultat erzielt wurde:

1. In der letzten Hälfte der Schwangerschaft nimmt die hemmende Wirkung des Serums gegen die Saponinhämolyse ausnahmslos bedeutend ab; je fortgeschrittener die Schwangerschaft ist, desto schwächer ist die antisaponische Kraft des Serums. 2 oder 3 Tage vor der Geburt weist sie ihren tiefsten Stand auf, wobei in der Tat eine drei- bis achtmal so große Serummenge als zu normaler Zeit erforderlich ist, um die gleiche Saponindosis zu neutralisieren: nämlich in der erstgenannten Zeit sind 0,05 bis 0,20 ccm, im Mittel 0,098 ccm Serum nötig, während in der normalen (nicht graviden) Zeit schon 0,01 bis 0,03, durchschnittlich 0,02, ccm Serum dazu ausreichen.

---

[1]) *Frei*, aus *Port*, 77; Inaug.-Diss., Zürich 1907.

[2]) *Pribram*, diese Zeitschr. 1, 413, 1906.

[3]) *Fraser* und *Gardner*, Proc. Roy. Soc. London 81, 230, 1909; 82, 559, 1910.

[4]) *Port*, Deutsch. med. Wochenschr. 1910, S. 1472; Deutsch. Arch. f. klin. Med. 99, 259, 1910.

[5]) *Wacker* und *Hueck*, diese Zeitschr. 100, 84, 1919; Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 71, 387, 1913.

[6]) Diese Menge entspricht etwa dem 2½fachen der Dosis, die nötig ist, um 0,5 ccm von 5proz. Kaninchenblutkörperchen-Aufschwemmung vollständig aufzulösen.

2. Vom ersten oder zweiten Tage vor der Entbindung an beginnt die antisaponische Kraft des Serums wieder zu steigen und pflegt nach der Entbindung meistens zur Norm zurückzukehren. Bei einigen anderen Fällen aber erfolgt die Wiederherstellung erst allmählich im Verlauf des Puerperiums.

3. Beim Säugen wird diese antisaponische Kraft nach und nach wieder vermindert, um sich nach der Entwöhnung der Jungen mit der Zeit wieder zu erholen.

6. Resistenz gegen Endotoxin.

Wenn das freie Cholesterin, wie schon gesagt, gegenüber verschiedenen bakteriellen oder tierischen Protoplasmagiften eine gewisse Schutzwirkung ausüben kann, so darf man wohl annehmen, daß durch die wesentliche Verminderung des freien Serumcholesterins die herabgesetzte Resistenz Schwangerer gegen gewisse Infektionskrankheiten bedingt ist, was sich auch aus meinen eigenen Experimenten mit Bakterien an trächtigen Kaninchen ersehen läßt.

Da sich Bacterium coli commune gegen Kaninchen selbst in abgetötetem Zustande als sehr giftig erweist, verwendete ich eine in folgender Weise zubereitete Koli-Emulsion: 20 Ösen Kolibazillen von einer 24 Stunden alten Agarkultur werden in 40 ccm physiologischer Kochsalzlösung gleichmäßig aufgeschwemmt, nach Abtötung der Bakterien durch 2 Stunden lange Erwärmung auf 60° C im Wasserbade und durch Zusatz von 0,2 ccm 40proz. Formalin wird die Aufschwemmung im Eisschrank aufbewahrt. Von dieser Aufschwemmung wurde nach Umschütteln Kaninchen je 0,3 ccm pro Kilogramm Körpergewicht intravenös vorsichtig injiziert, wobei 10 nicht trächtige und 17 trächtige Kaninchen verwendet wurden.

Die zehn nicht trächtigen Kaninchen vertrugen alle ohne besondere Störung die Kolibazilleninjektion und blieben am Leben, doch gingen 5 von 17 trächtigen binnen 12 Stunden nach der Einverleibung zugrunde. Bei diesen fünf Fällen war keine andere Todesursache als die Giftwirkung der Koliemulsion zu erkennen.

Die dabei aufgetretene Giftwirkung dürfte wohl auf das Koliendotoxin zurückgeführt werden. Höchstens kämen noch giftige Substanzen, die aus den Bakterienleibern erst durch lytische Einwirkung des Kaninchenserums hervorgebracht werden, in Betracht.

Daraus können wir wohl mit Recht schließen, daß sich die entgiftende Wirkung des Organismus bei trächtigen Kaninchen gegen Koliendotoxin im allgemeinen als schwächer als bei nicht trächtigen Tieren erweist.

7. Bakterizide Kraft.

Da bei trächtigen Kaninchen die Fähigkeit, Koliendotoxin zu entgiften, deutlich vermindert erscheint, dürfte es von Interesse sein, die Veränderung der sonstigen Abwehrmaßregeln gegen die Bakterien-

infektion während der Schwangerschaft und des Puerperiums zu studieren.

An erster Stelle nahm ich Untersuchungen über die Kolibazillen abtötende Wirkung des Kaninchenserums in den verschiedenen Stadien der Gravidität vor.

Methode: Zur quantitativen Bestimmung der bakteriziden Kraft des Serums bediente ich mich des Plattenverfahrens, das von *Nuttal, Nissen* und *Buchner*[1]) angewandt worden ist. Um die bakterizide Wirkung der zu untersuchenden Sera, die aus verschiedenen Kaninchen in verschiedenen Gestationsstadien entnommen wurden, zu vergleichen, wurden alle Sera zu gleicher Zeit nach demselben Verfahren untersucht. Zunächst wird eine Öse einer 24stündigen Agarkultur von Bacterium coli comm. in 5000 ccm steriler bouillonhaltiger physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Die frischen zu untersuchenden Sera und die mit Bouillon versetzte Kochsalzlösung werden zu je 1,8 ccm in sterile Reagenzgläser verteilt und denselben 0,2 ccm der oben zubereiteten Koliaufschwemmung mittels einer genau geeichten, sterilisierten Kapillarpipette zugesetzt. Nach gründlicher Durchmischung werden nun sofort die Proben aus den Reagenzröhrchen entnommen und je 0,2 ccm Mischung in die Petrischalen mit verflüssigtem Agar verteilt. Die Röhrchen werden im Brutschrank bei 37° C gehalten, und nach einer Frist von ½, 1 und 3 Stunden werden 0,2 ccm des Inhalts jedes Röhrchens gleicherweise wie bei den ersten Proben zu einer Agarplatte verarbeitet. Inzwischen läßt man den Inhalt jedes Röhrchens im Brutschrank ruhig stehen und mischt ihn nur bei jedem Abpipettieren gut durch. Nach Entwicklung der Kolonien, d. h. nach 20stündigem Stehen im Thermostaten, werden diese gezählt.

In bezug auf die bakterizide Kraft der Sera im nicht graviden, graviden und puerperalen Stadium läßt sich im großen und ganzen keine deutliche Differenz konstatieren. Nur ausnahmsweise kam eine leichte Abschwächung der bakteriziden Kraft im Puerperium zum Vorschein.

Santschenko[2]) fand, daß der Alexingehalt des Blutes bei 13 Frauen durch den Geburtsakt bedeutend vermindert war, was 5 bis 7 Tage lang post partum fortbestand, daß dagegen beim Kaninchen die Alexinmenge während des ganzen Verlaufs der Schwangerschaft, der Geburt und des Puerperiums keine Änderung erfuhr.

8. Bakterizide Wirkung.

a) *Komplementgehalt.*

Zwar kann die bakterizide Serumwirkung zum Teil auch zu gewissen chemischen Substanzen des Serums in Beziehung stehen, doch muß sicher auch das Komplement eine wichtige Rolle spielen. Wie bekannt, läßt sich die spezifische lythische oder zerstörende Wirkung des Serums durch das Komplement herbeiführen. Die Phagocytose der Leucocyten wird durch Vorhandensein von Opsonin und Tropin

---

[1]) *Kolle-Wassermann*, Handb. d. pathol. Mikroorg. 50, 943, 1912.
[2]) *Santschenko*, Zentralbl. f. Bakt. 42, 1909, Ref.

in hohem Maße beschleunigt. Beim Normalserum erweist sich die Tropinwirkung verschwindend klein. Die Opsoninwirkung erfordert das Zusammenwirken von Komplement und spezifischem Amboceptor wie bei der Bakteriolyse. Das Komplement spielt in der Tat eine wesentliche Rolle bei der opsonischen wie bakteriziden Serumwirkung, so daß seine quantitative Veränderung auch für die Resistenz des Organismus gegen Bakterieninfektion in Rechnung gezogen werden muß.

Bei der Immunisierung vermehren sich die Amboceptoren natürlich in hohem Maße, während das Komplement dabei keine Vermehrung erfährt. Die Abnahme des Komplementgehaltes kann unter verschiedenen Bedingungen in verschiedenem Grade zum Vorschein kommen, wie z. B. beim anaphylaktischen Schock, Eiweißzerfallstoxikose, Funktionsstörung der Leber und anderem mehr. Aus meinen obigen Versuchen ist der Beweis erbracht, daß der Reststickstoff und die antitryptische Kraft während der letzten Schwangerschaftsperiode sowie des Involutionsstadiums des Uterus bis zu einem gewissen Grade analog wie bei der Eiweißzerfallstoxikose verhalten, und daß sich in bezug auf die bakterizide Wirkung keine nennenswerte Differenz konstatieren läßt. So kann auch die Untersuchung des Komplements in den genannten Stadien von großer Bedeutung sein, um die Frage zu lösen, ob die Komplementverarmung dabei auch wirklich auftritt oder nicht. Zunächst wurde die Schwankung des hämolytischen Komplements während Gravidität und Puerperium untersucht.

Methodik: Zur Bestimmung des Komplementgehaltes bediente ich mich des hämolytischen Systems von Antihammel-kaninchenserum, d. h. 1,0 ccm des inaktivierten, in 1 : 10000 Verdünnung wirksamen, gegen Hammelerythrocyten bereiteten Kaninchenserums und 0,5 ccm 5 proz. Hammelerythrocytenemulsion. Das zu untersuchende Kaninchenserum verwandte ich in absteigender Dosis als Komplement. Die ganze Menge wurde mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2,5 ccm aufgefüllt und eine Stunde lang im Brutschrank bei 37° C stehengelassen, dann das Resultat abgelesen.

Zuerst wurden 15 trächtige und 5 puerperale Kaninchen in verschiedenen Stadien auf ihren Komplementgehalt untersucht, wobei auch 14 normale, nicht trächtige, zur Kontrolle herangezogen wurden. Die Ergebnisse sind folgende:

Der Gehalt an hämolytischem Komplement schwankt, so daß man keine Differenz zwischen graviden und nicht graviden Kaninchen konstatieren kann. Es kommen nicht selten Fälle vor, wo die Sera selbst in der Menge von 0,5 ccm als hämolytisches Komplement nicht zu wirken vermögen, während in anderen Fällen eine kleine Menge von 0,0725 bis 0,175 ccm ausreicht, um komplette Hämolyse zu erzeugen. Diese außerordentlich große individuelle Schwankung ist sowohl bei trächtigen bzw. puerperalen, als auch bei nicht trächtigen Kaninchen vorhanden.

Um nun einerseits die inviduelle Schwankung des Komplementgehaltes auszuschalten und andererseits einen eventuellen Einfluß der Schwangerschaft, der Geburt und des Puerperiums zu konstatieren, verfolgte ich die Komplementwirkung des Serums in den verschiedenen Stadien der Gravidität und des Puerperiums bei ein und demselben Individuum.

Auch bei diesem Versuch konnte ich keine gesetzmäßige Veränderung des Komplementgehaltes während der Schwangerschaft ermitteln. Nur bemerkte ich oft 3 oder 4 Tage vor und nach der Entbindung eine leichte Komplementverarmung, die bald meist wieder hergestellt wird.

b) Komplementregeneration.

Zwar kann eine Komplementverarmung im Organismus durch verschiedene Einwirkungen hervorgebracht werden, doch pflegt der Komplementgehalt beim Normaltiere nach Beseitigung der zur Verarmung führenden Ursachen sehr bald zur Norm zurückzukehren. *Schütze* und *Scheller*[1]) konnten deutlich und rasch einsetzenden Komplementschwund bei der intravenösen Injektion heterologer Erythrocyten nachweisen, der beim Normaltiere nach 2 bis 4 Stunden völlig ausgeglichen wurde, aber im infizierten oder überhaupt geschwächten Organismus noch nach 18 bis 20 Stunden ausgeprägt erschien. Das gleiche wurde auch von *Heilner* und *Schneider*[2]) bei hungernden Kaninchen gefunden.

Die Regenerationsfähigkeit des Komplements ist für die Resistenz des Organismus auch ein wichtiger Faktor. Es ist daher wichtig, das Regenerationsvermögen des Komplements während der Schwangerschaft und des Puerperiums genauer zu erforschen.

Methode: Um den Komplementschwund herbeizuführen, injizierte ich Kaninchen intravenös Hammelerythrocyten, die zunächst dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gut gewaschen und dann mit dem 100fachen Quantum von Amboceptoren als zur völligen Hämolyse benötigt wird, sensibilisiert worden waren. Dabei ist zu bemerken, daß je 2 ccm pro Kilogramm Körpergewicht injiziert wurden. Als Versuchskaninchen wurden nur solche, deren Sera bei der kleinen Menge von 0,2 ccm komplette Hämolyse erzeugen konnten, gewählt.

Vor der Injektion, sowie 1, 6 und 12 Stunden darnach, wurden den Tieren einige Kubikzentimeter Blut entnommen. Die Farbe des in der ersten Stunde post injektionem entnommenen Serums ist entsprechend seinem reichlichen Hämoglobingehalt kirschrot, während es 6 Stunden nach der Injektion schon bis rötlichgelb entfärbt ist. Zur Vergleichung der Komplementwirkung der Sera wurden ganze Versuche bei einem Tiere mit ein und demselben hämolytischen System auf einmal untersucht, nachdem alle früheren entnommenen Sera im Eisschranke bis zum folgenden Tage aufbewahrt worden waren.

---

[1]) *Schütze* und *Scheller*, Zeitschr. f. Hyg. **36**, 270–459, 1901.
[2]) *Heilner* und *Schneider*, Zeitschr. f. Biol. **59**, 321, 1913.

Aus den obigen Versuchen hat sich folgendes ableiten lassen:

1. Der auf die genannte Weise verminderte Komplementgehalt wird sowohl bei trächtigen als auch nicht trächtigen Kaninchen in 6 Stunden gar nicht oder nur zum kleinen Teil ersetzt. Es wurde kein Fall beobachtet, wo er vollständig zur Norm zurückkam.

2. Nach 12 Stunden erreichte aber das Komplement in den meisten Fällen nicht trächtiger Kaninchen mit einigen Ausnahmen seinen normalen Wert, während es im Schwangerschafts- oder Puerperalstadium nur in wenigen Fällen völlig regeneriert wurde, in den meisten dagegen nicht.

Also kann man wohl mit Recht aussagen, daß sich das Regenerationsvermögen des Komplements bei trächtigen und puerperalen Kaninchen viel schwächer als bei nicht trächtigen erweist.

9. Antikörperbildung.

Wie die Regeneration des Komplements, kann die Schnelligkeit, mit welcher der Organismus nach erfolgter Injektion spezifische Antikörper zu bilden vermag, für die Resistenz des infizierten Organismus und damit für den Verlauf einer Infektion von entscheidender Bedeutung sein. Was das Antikörperbildungsvermögen während der Schwangerschaft und des Puerperiums anbelangt, so ist nur eine Angabe von *Santschenko*[1]) zu erwähnen, der den Fixatoren- und Agglutiningehalt gegen Choleravibrionen (neun Fälle) und gegen Typhusbazillen (zwei Fälle) bei trächtigen sowie entbundenen Meerschweinchen und Kaninchen näher untersuchte, und dabei weder Differenz noch Schwankung in den betreffenden Stadien finden konnte.

Wünscht man sichere Aufschlüsse über die Einwirkung der Schwangerschaftsstadien auf die Antikörperbildung zu gewinnen, so kann dies nur sehr unvollständig geschehen, wenn man nach der Antigengabe nur einige einzelne Antikörpermessungen vornimmt; es ist notwendig, nicht nur eine sorgfältige Bestimmung des Antikörpertiters während der ganzen Dauer durchzuführen, sondern auch alle Versuchs- sowie Kontrolltiere immer unter gleichen Bedingungen zu halten, um ein gesetzmäßiges Resultat aus einer großen Anzahl von Versuchen zu finden, weil stets große individuelle Verschiedenheiten bei der Antikörperbildung vorhanden sind. Die Antigene werden nur einmal intravenös zugeführt, um dadurch zuverlässige Ergebnisse über die Inkubationsdauer, über die Schwankung des Titers und über das Verschwinden des Antikörpers zu erzielen.

a) *Präzipitine.*

Als Antigen wurde Hammelblutserum verwendet, von dem ich je 0,3 ccm pro Kilogramm Körpergewicht jedem Versuchskaninchen intravenös injizierte. Der Präzipitintiter wurde fast täglich untersucht. Zur Bestimmung der Präzipitinreaktion verwandte ich die sogenannte Ringprobe.

Die Versuchsreihen sind folgende: 1. Die Präzipitinbildung wurde zunächst bei neun nicht trächtigen Kaninchen als Kontrolle untersucht.

[1]) *Santschenko*, Zentralbl. f. Bakt. 42, 1909, Ref.

2. Bei fünf anderen Kaninchen, bei denen die Injektionen in der Mitte der Schwangerschaft vorgenommen wurden, könnten wir die Bildung des Präzipitins in der Gravidität im Puerperium und bei der Geburt untersuchen.

3. Bei weiteren zehn Kaninchen wurden die Injektionen in einem späteren Stadium der Gravidität oder kurz nach der Entbindung vorgenommen. Die dabei auftretenden Präzipitine sind als kurz vor und nach der Geburt gebildete Antikörper anzusehen.

Aus diesen Versuchen ging folgendes hervor: 1. Die Inkubationsdauer, die nach der Antigeninjektion bis zum Auftreten des Präzipitins verstreichen muß, betrug bei nicht trächtigen Kaninchen (Kontrolle) fast ausnahmslos 7 Tage; in einigen Fällen von trächtigen Kaninchen, denen in der Mitte der Gravidität injiziert worden war, betrug sie 6 Tage, also 1 Tag weniger. Jedoch waren sie bei denjenigen trächtigen Kaninchen, denen im späteren Schwangerschaftsstadium oder kurz vor der Entbindung injiziert wurde, meist 8 bis 9 Tage, und zwar war die Präzipitinbildung hierbei deutlich verzögert, während in den post partum injizierten Fällen sich keine Differenz von den Kontrollen nachweisen ließ. Natürlich gibt es hier auch einige Ausnahmen, aber man kann sicher sagen, daß im allgemeinen die Inkubationszeit zur Präzipitinbildung in der Schwangerschaftsmitte ein wenig verkürzt, in dem späteren Stadium oder kurz vor und nach der Geburt dagegen deutlich verlangsamt ist, während das spätere Puerperium keinen bemerkenswerten Einfluß darauf ausübt.

2. Der Präzipitintiter steigt stets nach der Inkubationszeit sehr schnell an und erreicht in einigen Tagen die maximale Höhe. Während sich der maximale Titer bei nicht trächtigen Kaninchen durchschnittlich als 1 : 2810 (1 : 425 bis 1 : 7240) erweist, schwankt er bei den trächtigen und puerperalen zwischen 1 : 160 und 1 : 3630 und beträgt im Mittel 1 : 688, was etwa einem Viertel des Titers der Kontrollkaninchen entspricht.

3. Bei den graviden und puerperalen Kaninchen sinkt der Präzipitintiter in verhältnismäßig kurzer Zeit ab, nämlich bei sechs Fällen unter 15 trächtigen Kaninchen verschwindet das Präzipitin innerhalb 2 bis 3 Wochen nach der Eingabe vollständig, während es bei den nicht trächtigen Kontrolltieren bis Ende der dritten Woche fast unverändert bleibt.

4. Der Präzipitintiter nimmt kurz vor und nach der Geburt mehr oder wenig ab, um nach Ablauf des Geburtseinflusses von neuem zu steigen. In einigen Fällen jedoch verschwindet das Präzipitin nach der Entbindung vollständig ohne wieder neu produziert zu werden.

b) *Agglutinine.*

Zur Prüfung der Agglutininbildung wählte ich Kolibazillen als Antigen, und als Versuchstiere verwendete ich diejenigen Kaninchen, die beim Versuch der Resistenz gegen Koliendotoxinvergiftung am Leben geblieben waren. Dabei habe ich bereits bei derartigen Resistenzprüfungen die Tatsache festgestellt, daß die Widerstandsfähigkeit gegen Koliendotoxin in der graviden Zeit deutlich herabgesetzt ist. Wenn auch der eigentliche Antikörper gegen das Endotoxin, wie wohl bekannt, durch die Immunisierung nicht erzeugt werden kann, sondern andere Abwehreinrichtungen gegen solche Endotoxine im Tierkörper eintreten müssen, so dürfte es doch ein interessantes Problem sein, das Agglutininbildungsvermögen in demjenigen Zustande zu erforschen, wo die Resistenz des Organismus gegen die Giftwirkung der als Antigen eingeführten Bakterien wesentlich vermindert ist.

Über die Immunisierungsweise habe ich schon im sechsten Kapitel Genaueres erwähnt. Für die Bestimmung des Agglutinintiters wurde ein Tropfen der homogenen Koliemulsion zu je 1 ccm zu untersuchenden Serums von verschiedener Verdünnung in geometrischer Progression zugesetzt. Nach der Mischung von Serumverdünnung und Kolisuspension wurden die Reagenzgläschen 24 Stunden lang in den Thermostaten bei 37° C gestellt und dann das Resultat makroskopisch beurteilt.

Die Versuchsreihen entsprechen denjenigen, welche bei der Präzipitinuntersuchung ausgeführt wurden, nämlich: 1. Neun nicht trächtige Kaninchen werden als Kontrolle untersucht. 2. Sechs trächtigen Kaninchen wird im mittleren Schwangerschaftsstadium das Antigen injiziert. 3. Bei anderen sechs Kaninchen wird das Antigen im späteren Stadium der Schwangerschaft oder auch nach der Entbindung injiziert.

Aus diesen Versuchen ergab sich folgendes: 1. Die Schnelligkeit (Inkubation) der Agglutininbildung weist keine Differenz zwischen graviden, puerperalen und nicht trächtigen Kaninchen auf, und zwar ist der Agglutinintiter in allen Fällen bis zum dritten Tage nach der Injektion fast null, aber am vierten Tage geht er ausnahmslos prompt in die Höhe.

2. Der maximale Agglutinintiter beträgt bei trächtigen und puerperalen Tieren etwa das Zweifache des Titers bei nicht trächtigen. Bei jenen schwankt er zwischen 1: 800 bis 1 : 12800 (im Mittel 1 : 5100), bei diesen zwischen 1 : 800 bis 1 : 4520 (im Mittel 1 : 2600).

3. Die Erniedrigung des Agglutinintiters geschieht bei graviden und puerperalen Kaninchen viel schneller als bei nicht trächtigen, daher ist die Titerkurve bei jenen steiler als bei diesen. Binnen 3 Wochen nach der Antigengabe kehren die Tiere beider Reihen zu fast gleicher Höhe, nämlich 1 : 400 bis 1 : 2260 zurück.

4. In einigen Fällen läßt sich eine Erniedrigung des Agglutinintiters kurz vor und nach der Entbindung deutlich bemerken.

5. Also darf man annehmen, daß das Agglutininbildungsvermögen gegen Kolibazillen bei trächtigen Kaninchen gesteigert ist, obgleich die Widerstandsfähigkeit gegen Koliendotoxin dabei im allgemeinen vermindert ist.

c) *Hämolysine.*

Als Antigen wurden defibrinierte, nicht gewaschene Hammelblutkörperchen, je 0,3 ccm pro Körpergewicht, den Kaninchen intravenös injiziert. Unter 22 Versuchstieren dienten neun nicht gravide Kaninchen als Kontrolle. Bei zwei Kaninchen wurde das Antigen im Schwangerschaftsanfange, bei fünf in der Mitte, bei sechs am Ende injiziert. Der Hämolysintiter jedes Versuchskaninchens wird in der Weise bestimmt, daß das zu untersuchende, bei 56° C 30 Minuten lang inaktivierte Serum zuerst in geometrische Progression mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wird. Auf 1 ccm des verdünnten Serums werden 0,5 ccm 10proz. Meerschweinchenserums als Komplement und 0,5 ccm 5proz. Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung zugefügt, worauf nach einstündigem Stehenlassen im Brutschranke bei 37° C die komplette Hämolyse geprüft wird.

Das Resultat dieser Versuche ist folgendes: 1. Die Schnelligkeit der Hämolysinbildung ist sowohl im Schwangerschaftsanfange als auch in der Mitte gleich der normaler Tiere. Schon 4 Tage nach der Einverleibung zeigt der Hämolysintiter in allen diesen Fällen einen Wert von 1 : 50 bis 1 : 400. (Mit zwei Ausnahmen, eine in der Kontrolle, die andere bei den trächtigen Kaninchen.) Jedoch ist die Hämolysinbildung in den Fällen, welchen im

späteren Schwangerschaftsstadium das Antigen injiziert wurde, immer etwas verzögert. In diesen Fällen hat nämlich der Hämolysintiter erst 6 Tage nach der Einverleibung einen Wert von 1 : 50 bis 1 : 560.

2. Der Hämolysintiter erreicht seine maximale Höhe 7 bis 10 Tage nach der Injektion. Bei nicht trächtigen Kontrolltieren variiert er von 1 : 280 bis 1 : 9050 und beträgt durchschnittlich 1 : 3360. Mit einer Ausnahme zeigen alle Kontrollen einen Titer von *über 1 : 1600*, während die Mehrzahl der trächtigen und puerperalen Kaninchen einen Titer von *unter 1 : 1600* zeigen; die höchsten Titer sind bei diesen nämlich 1 : 200 bis 1 : 3200, im Mittel 1 : 1193. Dies entspricht nur gerade einem Drittel des Titers der Kontrolltiere.

3. Der Hämolysintiter beginnt meistens 2 Wochen nach der Injektion allmählich herunterzugehen. Am Ende der vierten Woche nach der Injektion betragen die Titer bei nicht trächtigen Tieren 1 : 280 bis 1 : 3200, im Mittel 1 : 981, bei den Tieren post partum 1 : 140 bis 1 : 800, im Mittel 1 : 322, welcher Wert auch einem Drittel des Wertes der Kontrolltiter entspricht. Also geht die Erniedrigung des Hämolysintiters sowohl bei trächtigen und puerperalen, als auch beim nicht trächtigen Kaninchen mit der gleichen Geschwindigkeit vor sich.

In drei Fällen (einem in der Kontrolle und zwei unter den trächtigen Kaninchen) sank der Titer schon innerhalb 3 bis 4 Wochen nach der Injektion unter 1 : 50. Der Hämolysintiter war in diesen Fällen von Anfang an sehr niedrig.

4. Eine beträchtliche Erniedrigung des Titers einige Tage vor und nach der Entbindung konnte auch bei diesem Hämolysinversuche sicher konstatiert werden.

Zusammenfassung.

1. Während der normalen Schwangerschaft, abgesehen von der kurzen Zeit vor der Geburt, ist keine Vermehrung des Reststickstoffgehaltes im Kaninchenblutserum nachzuweisen. Dagegen nimmt der Reststickstoffgehalt 1 oder 2 Tage vor der Entbindung stets in mäßigem Grade zu und erfährt während und nach der Geburt eine wesentliche Vermehrung, um dann allmählich nach etwa 1 Woche auf den normalen Wert zurückzukehren. Die Ursache dieser auffallenden Vermehrung kurz vor der Geburt und im Puerperium ist hauptsächlich auf den schwangeren Uterus zurückzuführen, der unter dem Einfluß der Wehen sowie der Involution steht.

2. Die antitryptische Kraft des Kaninchenserums beginnt erst wenige Tage vor der Entbindung im allgemeinen etwas zuzunehmen, erreicht nach der Geburt ausnahmslos den höchsten Punkt, um dann allmählich nach etwa 7 Tagen bis zum normalen Titer zurückzukehren. Zwar gehen in den meisten Fällen die Schwankungen der antitryptischen Kraft und des Reststickstoffgehaltes fast ganz parallel, doch gibt es auch Fälle, wo zwischen beiden kein Zusammenhang besteht, was der *Rosenthal*schen Ansicht widerspricht.

3. Vermehrung des Blutzuckers ist beim Kaninchen in der Schwangerschaft nicht nachweisbar. Jedoch sehen wir in den meisten

Fällen von frühem Puerperium eine geringfügige Hyperglykämie, die sich desto deutlicher zeigt, je kürzere Zeit die Geburt erst zurückliegt.

4. Eine beträchtliche Verminderung des freien Cholesterins im Serum wird während der Schwangerschaft, namentlich in ihrer letzten Hälfte, nachgewiesen. Der freie Cholesteringehalt fängt vom ersten oder zweiten Tage vor der Geburt an wieder zu steigen, um schließlich innerhalb einiger Tage wieder zur Norm zurückzukehren. Durch das Säugen erfährt der Gehalt an freiem Cholesterin eine Abnahme, während er durch die Entwöhnung wieder zur Norm gebracht wird.

5. Die Resistenz trächtiger Kaninchen gegen Koliendotoxin erweist sich im allgemeinen als schwächer als bei nicht trächtigen.

6. Zwischen der bakteriziden Serumwirkung bei trächtigen bzw. puerperalen und nicht trächtigen Tieren läßt sich kein Unterschied nachweisen.

7. In bezug auf den Komplementgehalt der trächtigen bzw. puerperalen und nicht trächtigen Kaninchen kann man keine wesentliche Differenz feststellen. Leichte Komplementverarmung kommt aber 3 bis 4 Tage vor und nach der Geburt nicht selten vor.

8. Die Regeneration des Komplements pflegt sich durch Schwangerschaft und Puerperium etwas zu verzögern.

9. Die Bildung der Präzipitine und Hämolysine bei Einverleibung von Hammelserum und Erythrocyten wird im letzten Schwangerschaftsstadium, sowie im früheren Puerperium bedeutend verzögert und abgeschwächt; und zwar erscheint die Inkubationsdauer verlängert, und die gebildeten Präzipitine und Hämolysine weisen einen beträchtlich niedrigeren Titer auf, nämlich nur $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{3}$ des Titers der nicht graviden Fälle. In kurzer Zeit verschwinden sie ganz.

10. Die Agglutininbildung gegen Kolibazillen ist bei trächtigen und puerperalen Kaninchen bedeutend beschleunigt und belebt. Der Agglutinintiter erreicht dabei einen doppelt so hohen Wert als bei graviden. Dennoch läßt sich die hemmende Einwirkung der Geburt auf die Agglutininbildung und die schnellere Erniedrigung des Titers im Laufe der Schwangerschaft und des Puerperiums auch bei diesen Agglutininversuchen wahrnehmen.

Tierische Kalorimetrie.

I. Mitteilung:

Vorbesprechung.

Von

Paul Hári.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl. ungar. Universität Budapest.)

(Eingegangen am 22. September 1924.)

So wie früher Jahrzehnte hindurch die Neigung bestanden hatte, den Energieumsatz und die Faktoren, von denen er abhängt, bloß quantitativ einzuschätzen, so wird heute mit Vorliebe unter der Flagge der Vitamine gesegelt, wobei wieder die quantitative Seite zu kurz kommt; also derselbe Fehler begangen wird, wie jedesmal, wenn ein einseitiger Standpunkt zu stark zur Geltung kommt.

Es ist ja richtig, daß durch Bestimmung des Energieumsatzes seit einiger Zeit kaum mehr Nennenswertes an den Tag gefördert wurde und der Versuch, über so manche Fragen auf diese Weise Aufschluß zu erlangen, gescheitert ist; doch liegt der Fehler meistens nicht am Prinzip selbst, sondern in der Art, wie diese Bestimmungen ausgeführt wurden. Zwar muß zugegeben werden, daß die großen Grundprinzipien des Energieumsatzes zunächst mit Hilfe verhältnismäßig unvollkommener Einrichtungen bereits ganz richtig erkannt und mit Hilfe der vollkommenen amerikanischen Kalorimeter später auch ganz sichergestellt wurden; eine große Anzahl von Einzelproblemen des Energieumsatzes wurde aber bisher bloß auf Grund des Kohlenstoff- und Stickstoffumsatzes oder des Sauerstoffverbrauchs allein oder des Sauerstoffverbrauchs und des respiratorischen Quotienten gelöst bzw. zu lösen gesucht, so daß nicht alle diese Befunde einer strengen Nachprüfung mit vollkommenen Methoden standhalten dürften.

Mehr als in jeder anderen physiologischen Frage ist bei der Bestimmung des Energieumsatzes das beste, was die Methodik leisten kann, eben noch gut genug! Und wenn es auch richtig ist, daß aus

äußeren Ursachen nicht in jedem Falle die beste Methode angewendet werden kann und kein Versuch aus diesem Grunde allein unterlassen werden darf, so ist damit nicht die Tatsache aus der Welt zu schaffen, daß das Ergebnis solcher Versuche nicht alle Merkmale der verbürgten Wahrheit an sich trägt.

Parallelbestimmungen von der Art, wie sie in der chemischen Analyse üblich sind, können bei der Bestimmung des Energieumsatzes aus begreiflichen Gründen ebensowenig ausgeführt werden wie in anderen physiologischen Fragen, und Parallel*bestimmungen* müssen hier durch Parallel*versuche* ersetzt werden. Doch ist damit noch nicht alles gewonnen; denn bei noch so guter Übereinstimmung der Parallelversuche, in denen entweder nur der Gaswechsel oder nur die Wärmeproduktion bestimmt wird, lauert im Hintergrunde stets die Gefahr von systematischen Fehlern, die bewirken können, daß die Versuchsergebnisse sehr wenig mit der Wahrheit zu tun haben. Ein solcher systematischer Versuchsfehler kann ganze Versuchsreihen hindurch unentdeckt bleiben, wie es auch uns während unserer seit mehr als zwei Jahrzehnten fortgesetzten Versuche leider wiederholt untergekommen ist, und zwar sowohl in der indirekten, wie auch in der direkten Kalorimetrie. Der Fehler kann viele Prozente betragen, und nichts ist dann selbstverständlicher, als daß die Änderung, die man im Energieumsatz von dem zu untersuchenden Eingriff (Nahrungszufuhr, Arzneien, Gifte usw.) erwartet, nicht nur verdeckt werden, sondern unter Umständen geradezu entgegengesetzt gerichtet in Erscheinung treten kann.

Ohne irgend die unendliche Mühe, die an solche unkontrollierte Versuchsergebnisse verwendet wurde, gering einschätzen zu wollen, wird man sich schlechterdings zu dem Satze bekehren müssen, daß *das Ergebnis eines Versuchs, in dem der Energieumsatz bloß auf dem Wege der indirekten Kalorimetrie allein oder der direkten Kalorimetrie allein ermittelt wurde, kein ganz gesichertes ist.* Es müßte als Endziel aller Bemühungen vorschweben, einerseits alle neu anzuschneidenden Probleme durch Versuche zu lösen, in denen direkte und indirekte Kalorimetrie sich gegenseitig kontrollieren, andererseits alle Befunde über den Energieumsatz, soweit sie nicht ähnlich sichergestellt sind, einer strengen Revision und experimentellen Nachprüfung zu unterwerfen. Bezüglich einiger Fragen wurde diese Revision von seiten amerikanischer Forscher, denen höchst sinnreich konstruierte und exakt funktionierende Kalorimeter zur Verfügung stehen, bereits durchgeführt, und haben diese Versuche zu bemerkenswerten Ergebnissen geführt; auch ist bei der Fülle an Mitteln, die jenseits des großen Wassers zur Verfügung stehen, nicht daran zu zweifeln, daß von dort die Klärung weiterer Fragen erwartet werden darf.

Eine solche Revision haben auch die Arbeiten zum Vorwurf, die, in dem von mir geleiteten Institut ausgeführt, unter der (auch von *Graham Lusk* zu ähnlichem Zwecke verwendeten) Sammelaufschrift „Tierische Kalorimetrie“ in dieser Zeitschrift fortlaufend mitgeteilt seien, und zwar soll da über Versuche berichtet werden, in denen das Ergebnis im oben genannten Sinne dadurch sichergestellt ist, daß direkte und indirekte Kalorimetrie sich gegenseitig kontrollieren.

In nachstehendem soll kurz über die Gesichtspunkte, die für uns in diesen Versuchen maßgebend sind, sowie über die getroffene Versuchseinrichtung berichtet werden.

1. *Verfassung der Versuchstiere.* Strengste Beachtung erheischt in länger sich hinziehenden Versuchsreihen die Verfassung des Tieres, die sich nicht immer genau in seinem Körpergewicht widerspiegelt. Diesbezüglich wird ein lehrreiches Beispiel durch *Graham Lusk*[1]) geliefert: Der stündliche Grundumsatz eines seiner Versuchshunde betrug im Februar 1913, nachdem er sich vorangehend frei herumbewegen durfte, bei einem Gewicht von 11,5 kg 19,80 Cal; im Juni 1914 nach längerem Aufenthalt im Käfig bei einem Gewicht von 12,3 kg nur mehr 16,85 Cal, im April desselben Jahres unter gleichen Umständen bei einem Gewicht von 12,2 kg ebenfalls nur 15,96 Cal; hingegen im Oktober desselben Jahres nach längerem Aufenthalt im Freien bei einem Gewicht von 12,7 kg wieder 19,99 Cal. Nach *Graham Lusk* wird durch den dauernden Aufenthalt eines Tieres im Versuchskäfig sein Grundumsatz erheblich herabgesetzt, auch wenn es an Körpersubstanz nichts verliert; er kehrt jedoch während des Aufenthalts im Freien zu seiner früheren Höhe zurück.

2. *Körpergewicht.* Es ist aber auch etwaigen Änderungen im Körpergewicht der Tiere größte Achtsamkeit zu schenken, und es wäre durchaus verfehlt, bei stark schwankendem Körpergewicht die auf 1 kg Körpergewicht oder auch auf 1 qm Körperoberfläche reduzierten Werte des Energieumsatzes miteinander vergleichen zu wollen. Auch ist es unmöglich, z. B. an einer Ratte den Grundumsatz dadurch feststellen zu wollen, daß man sie mehrere Tage lang hungern läßt, dabei täglich den Energieumsatz bestimmt und aus den so erhaltenen Werten den Mittelwert zieht; denn der Energieumsatz der hungernden Ratte nimmt, ob man ihn auf die Einheit des Körpergewichts oder auf die der Körperoberfläche bezieht, von Tag zu Tag erheblich ab. Auch durch abwechselndes Füttern und Hungernlassen der Ratten kann weder ein konstantes Körpergewicht, noch ein konstanter Energieumsatz erreicht werden, wie in der dritten Mitteilung gezeigt werden soll. Also mußten wir uns anders behelfen, und zwar in einer Weise,

[1]) *Graham Lusk*, Journ. of biol. Chem. **20**, 565, 1915.

wie dies jedesmal in der betreffenden Mitteilung beschrieben werden wird. Andererseits ist es aber auch möglich, daß eine starke *Zunahme* des Körpergewichts, wobei offenbar größere Fettmengen angesetzt werden, ebenfalls mit einer Abnahme des auf 1 kg oder 1 qm reduzierten Energieumsatzes einhergeht; offenbar, weil nun Fettgewebe, dessen Stoffwechsel, wie bekannt, sehr niedrig ist, in relativ größeren Mengen als früher am Aufbau des Körpers beteiligt ist.

Als Grundprinzip hielten wir es also stets vor Augen, daß die Tiere *in der Vor- und in der Hauptperiode möglichst dieselbe Verfassung und wenigstens annähernd dasselbe Körpergewicht aufweisen.*

3. *Versuchstemperatur.* Von den äußeren Versuchsbedingungen war es namentlich die Außentemperatur, auf die wir in allen Versuchen großes Gewicht gelegt haben: *wir haben es zum Prinzip erhoben, die Versuche stets bei oder wenigstens in der Nähe der kritischen Temperaturgrenze auszuführen,* die für weiße Ratten nach *K. Gotos*[1]) in unserem Institut ausgeführten Versuchen bei 28° C gelegen ist. Hierzu wurden wir durch folgende Überlegung veranlaßt. Es ist einerseits der bei dieser Temperatur gefundene Energieumsatz (Grundumsatz, minimale Erhaltungsarbeit am Hungertiere) am besten geeignet, als Vergleichsbasis zu dienen. Andererseits liegt eine gewisse Gefahr darin, wenn die Versuche, durch die z. B. die den Energieumsatz steigernde Wirkung irgend eines Eingriffs gezeigt werden soll, bei niedrigerer Außentemperatur ausgeführt werden. Sowie nämlich im Sinne der von *Rubner* zuerst beschriebenen Kompensationsvorgänge bei niedriger Außentemperatur der Energieumsatz gleich hoch sein kann, ob viel Fleisch oder gar keins eingeführt wurde, kann es auch geschehen, daß die vom experimentellen Eingriff erwartete Steigerung des Energieumsatzes bei niederer Außentemperatur überhaupt nicht in Erscheinung tritt. Denn in der Vorperiode ist der Energieumsatz, wenn er bei niedriger Temperatur bestimmt wird, gegen den Grundumsatz aus Gründen der chemischen Regulation erhöht. Wenn nun im meritorischen Versuch der zu untersuchende Eingriff eine Steigerung des Energieumsatzes zur Folge hat, so kommt im Sinne des *Rubner*schen Kompensationsgesetzes diese Steigerung für die Steigerung aus chemisch-regulatorischen Gründen auf; und wenn in der Vorperiode, wie es sich leicht ergeben kann, die Steigerung aus chemisch-regulatorischen Gründen annähernd gleich ist der Steigerung, die im meritorischen Versuch durch den Eingriff hervorgebracht wurde, so wird der Energieumsatz *in allen Versuchen gleich groß gefunden,* als ob jener Eingriff überhaupt keinen Einfluß auf den Energieumsatz gehabt hätte.

---

[1]) *K. Goto,* diese Zeitschr. **135**, 107, 1923.

In Versuchen, die bei oder in der Nähe der kritischen Temperaturgrenze ausgeführt werden, ist ein solches Vorkommnis ausgeschlossen.

4. *Direkte Kalorimetrie.* Der Apparat, dessen wir uns in der direkten Kalorimetrie bedienten, ist das von *Tangl*[1]) vor mehreren Jahren beschriebene „Kalorimeter für kleine Tiere", das aber von uns in der vielfach ergänzten und verbesserten Form verwendet wird, die an anderer Stelle[2]) mitgeteilt ist. Es handelt sich um ein elektrisches Kompensationskalorimeter, dessen Bau und Verwendungsweise hier nur in aller Kürze wiedergegeben sei. Von zwei Hohlzylindern aus dünnem Kupferblech, die sowohl voneinander wie auch von der Umgebung sorgfältig isoliert sind, dient einer zur Aufnahme des in einen Käfig aus Drahtgeflecht eingeschlossenen Versuchstieres, der andere zur Aufnahme einer Drahtspule von genau bekanntem elektrischen Widerstand. Die beiden Hohlzylinder sind an symmetrischen Stellen ihrer äußeren Flächen durch aufgelötete Konstantandrähte verbunden, außerdem geht von beiden Hohlzylindern je ein dicker Kupferdraht ab, um an den Polen eines empfindlichen Galvanometers zu endigen. Besteht zwischen beiden Hohlzylindern ein Temperaturunterschied (z. B. weil auf der einen Seite ein Tier eingesetzt wurde), so entsteht zwischen den Lötstellen ein Thermostrom, der vom Galvanometer angezeigt wird. Wir lassen es aber nicht darauf ankommen, daß ein dem Temperaturunterschied entsprechender Thermostrom zustande komme, der ja schließlich auch als Maßstab der vom Tiere abgegebenen Wärme dienen könnte; sondern verwenden den Apparat als Nullinstrument, indem durch die Spule im anderen Hohlzylinder ein elektrischer Strom gesendet wird, dessen Stärke an einem empfindlichen Amperemeter abgelesen werden kann und durch den auf diese Weise Wärme in genau berechenbarer Menge erzeugt wird. Die Intensität dieses Stromes wird durch einen eingeschalteten Rheostaten so lange geändert, bis der Thermostrom gleich Null geworden ist; dies ist dann der Fall, wenn zwischen beiden Hohlzylindern kein Temperaturunterschied mehr besteht, indem die vom Tiere auf der einen Seite abgegebene Wärme durch den im Widerstand auf der anderen Seite erzeugten Wärme gleichsam „kompensiert" ist. Dann ist aber, sofern Wärmekapazität und Isolierung der Hohlzylinder auf beiden Seiten identisch sind, die gesuchte Wärmeabgabe des Tieres gleich der Wärme, die aus Widerstand und Stromstärke in der Drahtspule berechnet werden kann.

Eine vollständige Kompensation kann allerdings um so weniger gelingen, da die Wärmeabgabe des Tieres Schwankungen aufweist und

---

[1]) *Franz Tangl,* diese Zeitschr. **58**, 21, 1913.

[2]) *Paul Hári,* Unter Druck als Sonderkapitel im Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, herausgegeben von E. Abderhalden bei Urban und Schwarzenberg.

eine häufige Änderung des Kompensationsstromes Versuchs- und Berechnungsfehler vielfach vermehren würde. Daher wird nach der ersten möglichst angenäherten Kompensation am Kompensationsstrome nichts mehr geändert und der restierende Thermostrom bzw. der entsprechende Galvanometerausschlag, dessen Wärmeäquivalent durch vorangehende Kalibrierung uns genau bekannt ist, in Kalorien umgerechnet, die dann je nach der Richtung des Galvanometerausschlages zur abkompensierten Wärme hinzuaddiert oder aber von ihr abgezogen werden.

Zu der so resultierenden Summe kommt dann noch die Wärme, die in der von einem „Rotatory Blower" durch den Tierraum getriebenen Ventilationsluft entführt wird. Um diese Wärmemenge zu berechnen, muß nebst dem Temperaturunterschied zwischen ein- und austretender Luft auch deren während der Versuchsdauer durch den Tierraum streichende Menge bekannt sein. Nun ist es aber untunlich, im Tierversuch eine mit Wasser beschickte Gasuhr in den Ventilationsstrom einzuschalten; daher haben wir uns wie folgt beholfen: Wir haben in eigens hierzu ausgeführten Leerversuchen mittels eines an die Achse der Blowertrommel angeschlossenen Tourenzählers und einer eingeschalteten Gasuhr festgestellt, wieviel Luft durch eine einmalige Umdrehung der Blowertrommel durch den Tierraum getrieben wird, und erhielten auf diese Weise das „Kaliber" des Blowers. In den Tierversuchen haben wir nunmehr nichts anderes zu tun, als die Umdrehungszahl des Blowers in Intervallen von je ½ bis 1 Stunde abzulesen und diese Zahl mit dem genannten Kaliber zu multiplizieren. Aus der nunmehr bekannten Menge der Ventilationsluft, aus ihrer Temperaturerhöhung, ihrer mittleren Temperatur und dem abgelesenen Barometerstand, ferner aus dem spezifischen Gewicht und der spezifischen Wärme der Luft läßt sich alsdann die gesuchte Wärmemenge ohne weiteres berechnen.

Endlich kommt noch die Wärme hinzu, die während der Versuchsdauer zur Wasserverdampfung verwendet wurde und einerseits aus der Menge des vom Tiere abgegebenen Wasserdampfes (Bestimmung s. weiter unten), andererseits aus der Verdampfungswärme des Wassers berechnet wird, die nach *Smith*[1]) pro 1 g Wasser gleich ist 597,44 — 0,580 . T g-cal. Für T wird in unseren Versuchen die mittlere Temperatur des Tierraumes eingesetzt.

---

[1]) *A. W. Smith*, Heat of evaporation of water. Physical Review **25**, 145, 1907; zitiert bei *Francis G. Benedict* and *Thorne M. Carpenter*, Respiration Calorimeters for studying the respiratory exchange and energy transformations of man. Carnegie Institution of Washington, Publication Nr. 123, 1910, S. 45.

Die Wärmemengen, die aus dem Kompensationsstrome, aus dem restierenden Thermostrome, aus der Erwärmung der Ventilationsluft und aus der Wasserverdampfung berechnet werden, ergeben zusammen die Wärme, die vom Tiere *abgegeben* wurde. Um aus der Wärme*abgabe* die Wärme*produktion* zu erhalten, muß entsprechend der Änderung, die Körpergewicht und Körpertemperatur des Tieres während der Versuchsdauer erleiden, eine Korrektion angebracht werden. Nimmt nämlich das Tier während der Versuchsdauer nichts zu sich und nimmt demzufolge sein Körpergewicht ab, so wird von ihm Wärme an den Tierraum abgegeben, die nicht als produzierte Wärme in Rechnung gebracht werden darf, da sie bloß aus der Einschmelzung von Körpersubstanz hervorgegangen ist. Sie muß daher von der gesamten Wärmeabgabe *abgezogen* werden. Dasselbe ist der Fall, wenn die Körpertemperatur während der Versuchsdauer abgenommen hat. Hat hingegen eine Zunahme der Körpertemperatur stattgefunden, so muß die hierfür verwendete Wärme, da sie kalorimetrisch nirgends zum Ausdruck kommt, zur gesamten Wärmeabgabe *hinzuaddiert* werden. Wir berechnen die genannten Korrektionen, von einer geringen prinzipiellen Abweichung abgesehen, ähnlich wie dies *Benedict*[1]) vorschlägt. Wird das Körpergewicht des Tieres am Anfang bzw. am Ende des Versuchs mit G_a bzw. G_e, seine Körpertemperatur mit KT_a bzw. KT_e, die mittlere Temperatur des Tierraumes mit TT bezeichnet, und nimmt man die spezifische Wärme des Tierkörpers mit *Benedict* zu 0,83 an, so wird infolge der Gewichts- und Temperaturänderung des Tieres vom Anfang des Versuchs bis zu dessen Ende abgegeben:

durch $G_a - G_e$ g Tier $G_a - G_e$) $(KT_e - TT)$. 0,83 g-cal,
„ G_e g Tier G_e $(KT_a - KT_e)$. 0,83 g-cal.

Ist die Temperatur des Tierraumes vom Anfang bis zum Ende des Versuchs unverändert, so sind die Ergebnisse, die aus der *Benedict*schen und aus unserer Berechnungsart hervorgehen, identisch; sind jene Temperaturen verschieden, so ergeben sich unter Umständen erheblichere Unterschiede, wobei ich aber noch bemerken muß, daß auch unsere Berechnungsart nur in dem Falle theoretisch richtig ist, wenn, was im großen und ganzen für die meisten Fälle wird angenommen werden dürfen, die Änderung der Temperatur im Tierraume vom Anfang bis zum Ende des Versuchs gleichmäßig vor sich geht.

Da diese Korrektion oft, namentlich wenn die Änderung der Körpertemperatur erheblicher ist, einen keineswegs zu vernachlässigenden Wert hat, nehmen wir die Bestimmung der Körpertemperatur im

---

[1]) *Francis Gano Benedict*, The influence of inanition on metabolism. Carnegie Institution of Washington, Publication Nr. 77, 1907, S. 49.

Rectum jedesmal am Anfang und am Ende des Versuchs möglichst sorgfältig vor: wir schieben das Thermometer stets bis zu derselben, mit einem Gummiring bezeichneten Tiefe von 2,5 cm in das Rectum und lassen es nach dem Stillstand des Quecksilberfadens noch 2 Minuten lang liegen.

5. *Indirekte Kalorimetrie.* Die oben erwähnte Durchventilation des Tierraumes ist auch nötig, um die CO_2-Ausgabe des Tieres und seinen O_2-Verbrauch bestimmen, aus beiden den respiratorischen Quotienten formen und aus O_2-Verbrauch und respiratorischem Quotienten den Energieumsatz berechnen zu können. Es wird durch den Rotatory Blower Luft in einem geschlossenen Kreissystem durch Tierraum und durch die angeschlossenen, mit konzentrierter Schwefelsäure bzw. mit Natronkalk beschickten Absorptionsgefäße, welch letztere HO_2-Dampf bzw. CO_2 absorbieren, getrieben. Von außen wird aber aus einer kalibrierten Bürette O_2-Gas in dem Maße eingeführt, als es vom Tiere verbraucht wurde. Das an der Bürette abgelesene O_2-Volumen bedarf noch einer Korrektion für die etwaige Änderung im O_2-Gehalt der zirkulierenden Ventilationsluft, die zu diesem Behufe am Ende des Versuchs genau analysiert werden muß (direkte Bestimmung des O_2-Verbrauchs).

Zur Kontrolle dieser direkten Bestimmung dient die Berechnung des O_2-Verbrauchs aus der Änderung des Körpergewichts und aus der Summe sämtlicher Ausgaben des Tieres (eventuell auch seiner flüssigen und festen Einnahmen) während der Versuchsdauer. Diese Berechnung des O_2-Verbrauchs, die neben und als Kontrolle seiner direkten Bestimmung nur von einigen Autoren und auch von diesen nur in wenigen Versuchsreihen ausgeführt wurde[1]), *wird von uns nie unterlassen* und läßt sich namentlich in Versuchen an kleinen Tieren, da die Absorptionsgefäße auf der analytischen Wage auf 1 mg genau gewogen werden können, mit großer Genauigkeit ausführen, besonders wenn man Harn und Kot nicht gesondert, sondern, wie wir dies immer machen, gleichzeitig mit dem in den Käfig eingeschlossenen Tiere auf einer guten Tarawage auf 1 cg genau abwägt. Die Berechnung des O_2-Verbrauchs hat sich nicht nur aus dem Grunde als sehr nutzbringend erwiesen, weil bei guter Übereinstimmung zwischen den direkt und indirekt erhaltenen Werten der O_2-Verbrauch vollkommen sichergestellt ist, sondern auch, weil im Falle einer Unstimmigkeit zwischen direkter und indirekter Kalorimetrie bei guter Übereinstimmung der nach beiden Methoden erhaltenen O_2-Werte erwiesen ist, daß der durch direkte Kalorimetrie erhobene Befund der unrichtige ist.

---

[1]) *Francis G. Benedict*, A comparision of the direct and indirect determination of oxygen consumed by man. American Journal of Physiology **26**, 15, 1910.

Die Berechnung des Energieumsatzes aus dem O_2-Verbrauch und dem respiratorischen Quotienten führen wir meistens auf Grund der Tabelle von *Magnus-Levy*[1]) aus, deren Daten für den Fall einer 15proz. Beteiligung des Eiweißes an dem Energieumsatz berechnet sind; und zwar tun wir dies aus folgendem Grunde: Die Dimensionen des von uns verwendeten kleinen Kalorimeters reichen nur für Tiere bis zur Körpergröße einer erwachsenen weißen Ratte hin. An solch kleinen Tieren erfolgt aber die Entleerung des Harns recht unregelmäßig; an eine Abgrenzung des Harns ist überhaupt nicht zu denken, und nur allzu häufig geschieht es zu dem kritischsten Zeitpunkte, bei der Bestimmung der Körpertemperatur am Anfang oder am Ende des Versuchs, daß das Tier seine Blase entleert, wobei der Harn naturgemäß großenteils verloren geht.

Wir sehen also meistens davon ab, den Harn-N zu bestimmen, hieraus CO_2 bzw. O_2, die auf verbranntes Eiweiß entfallen, zu berechnen, diese Mengen von der gesamten CO_2-Produktion bzw. dem gesamten O_2-Verbrauch abzuziehen, aus dem restlichen CO_2 und O_2 einen neuen respiratorischen Quotienten zu formen und den kalorischen Wert des restlichen O_2 auf Grund dieses neuen Quotienten der Tabelle von *Zuntz* und *Schumburg*[2]) zu entnehmen; sondern berechnen, wo dies nur irgend zulässig ist, einfach den kalorischen Wert des gesamten verbrauchten O_2 auf Grund der im Versuch gefundenen respiratorischen Quotienten aus der erwähnten Tabelle von *Magnus-Levy*. Wie gering übrigens der Fehler ist, der auf diese Weise begangen wird, soll an der Hand des nachfolgenden Beispiels gezeigt werden.

Nehmen wir z. B. an, daß die Hungerratte, die in einem demnächst mitzuteilenden Versuche pro 24 Stunden 3,95 Liter CO_2 produziert und 5,42 Liter O_2 verbraucht hat, 0,25 bzw. um mit einem Maximal- und einem Minimalwert zu rechnen, 0,04 g N innerhalb 24 Stunden im Harn entleert hätte.

Im ersteren Falle wären auf verbranntes Eiweiß $4{,}75 \times 0{,}25 = 1{,}19$ Liter CO_2 und $5{,}92 \times 0{,}25 = 1{,}48$ Liter O_2 entfallen; durch die Verbrennung N-freier Substanzen wären also $3{,}95 - 1{,}19 = 2{,}76$ Liter CO_2 entstanden, und $5{,}42 - 1{,}48 = 3{,}94$ Liter O_2 verbraucht worden. Der neue respiratorische Quotient hätte alsdann $2{,}76 : 3{,}94 = 0{,}701$ betragen. Bei diesem respiratorischen Quotienten beträgt aber der kalorische Wert des verbrauchten O_2, nach der *Zuntz*- und *Schumburg*schen Tabelle, 4,686 Cal per Liter, es wären also aus der Verbrennung N-freier Stoffe entstanden $3{,}94 \times 4{,}686 = 18{,}46$ Cal. Hierzu kämen, den 0,25 g Harn-N entsprechend, aus verbranntem Eiweiß $0{,}25 \times 6{,}25 \times 4{,}1 = 6{,}41$ Cal, also insgesamt $18{,}46 + 6{,}41 = 24{,}87$ **Cal.**

---

[1]) *Adolf Magnus Levy* in *Noordens* Handb. d. Pathol. des Stoffwechsels, 2. Aufl., S. 207, 1906.

[2]) *Zuntz* und *Schumburg*, Studien zu einer Physiologie des Marsches, S. 361. Berlin, Hirschwald, 1901.

Im zweiten Falle entfallen auf verbranntes Eiweiß 4,75 × 0,04 = 0,19 Liter CO_2 und 5,92 × 0,04 = 0,24 Liter O_2, demnach auf N-freie Stoffe 3,95 − 0,19 = 3,76 Liter CO_2 und 5,42 − 0,24 = 5,18 Liter O_2. Der neue respiratorische Quotient hätte alsdann 3,76 : 5,18 = 0,726 und der kalorische Wert des O_2 nach der *Zuntz-Schumburg*schen Tabelle 4,710 betragen; daher aus der Verbrennung N-freier Stoffe 5,18 × 4,71 = 24,40 Cal hervorgegangen wären. Hierzu kämen noch, entsprechend den 0,04 g Harn-N 0,04 × 6,25 × 4,1 = 1,02 Cal, also insgesamt 24,40 + 1,02 = **25,42 Cal.**

Wird endlich der Harn-N, wie wir es häufig tun, vollständig vernachlässigt und eine Beteiligung des Eiweißes am Energieumsatz zu 15 Proz. angenommen, so kommt bei einem respiratorischen Quotienten von 3,95 : 5,43 = 0,728 dem O_2, aus der *Magnus-Levy*schen Tabelle durch Interpolation erhalten, ein kalorischer Wert von 4,681 Cal zu, demzufolge dann der gesamte Energieumsatz 5,42 × 4,681 = **25,87 Cal** beträgt.

Der Fehler, der durch die Vernachlässigung des Harn-N begangen wird, beträgt also auch im Falle einer mächtigen N-Ausscheidung im Harn nicht mehr als etwa 2 Proz. und ist um so geringer, je geringer die Harn-N-Mengen in Wirklichkeit waren.

6. *Reduktion des 24stündigen Energieumsatzes auf die Einheit der Körperoberfläche.* Wie nunmehr allgemein üblich, haben wir zur Beurteilung unserer Versuchsergebnisse die auf 1 qm Körperoberfläche reduzierten Werte verwendet. Zur Berechnung der Körperoberfläche haben wir uns der *Meeh*schen Formel bedient und setzten für die Konstante nach *Rubner*[1]) den Wert von 9,1 ein. Die sehr überzeugenden Betrachtungen von *Delafield Dubois* und *Eugene F. Dubois*[2]), *Margaret Sawyer*, *Richard H. Stone* und *Eugene F. Dubois*[3]), *Delafield Dubois* und *Eugene F. Dubois*[4]), *Frank C. Gephart* und *Eugene F. Dubois*[5]) über die prinzipiellen Fehler der *Meeh*schen Formel sollten uns eigentlich veranlassen, diese Formel nicht mehr zu verwenden. Da aber eine verbesserte Berechnungsart zurzeit nur für den Menschen vorliegt, müssen wir uns notgedrungen mit der alten Formel begnügen, auf die Gefahr hin, daß sie auch in der Anwendung auf den Rattenkörper falsch ist.

Ich habe eingangs erwähnt, daß ganz sichergestellte Resultate nur von Versuchen zu erwarten sind, in denen neben der indirekten Kalorimetrie auch die direkte ausgeführt ist; jedoch auch betont, daß es besser ist, ein Problem mit weniger vollkommener Methodik

[1]) Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung, S. 281. Deutecke, 1902.

[2]) Arch. of intern. Med. **15**, II, 868, 1915.

[3]) Ebendaselbst **17**, II, 855, 1916.

[4]) Ebendaselbst **17**, II, 863, 1916.

[5]) Ebendaselbst **17**, II, 902, 1916.

zu lösen zu versuchen, als überhaupt nicht daran zu gehen. Auch in dem von mir geleiteten Institut werden neben Versuchen mit gleichzeitiger direkter und indirekter Kalorimetrie stets auch solche ausgeführt, in denen der Energieumsatz bloß aus dem Sauerstoffverbrauch oder aus diesem und dem respiratorischen Quotienten berechnet wird, und zwar aus dem Grunde, weil uns zurzeit nur *ein* Respirationskalorimeter zur Verfügung steht und wir auf gleichzeitiges Bearbeiten verschiedener Themata über den Energieumsatz nicht verzichten wollen. Die Ergebnisse von Versuchen, in denen nur die indirekte Kalorimetrie durchgeführt wurde, sollen ebenfalls in die Reihe der Mitteilungen über „Tierische Kalorimetrie“ aufgenommen werden.

Tierische Kalorimetrie.

II. Mitteilung:
Gaswechsel und Energieumsatz im Fieber.

Von

Zoltán Aszódi.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl. ungar. Universität Budapest.)

(Eingegangen am 22. September 1924.)

Aus den neuesten Versuchen am Menschen, die zum größten Teil in Amerika ausgeführt wurden[1]), geht nun unzweifelhaft hervor — was übrigens bereits durch vorangehende Mitteilungen anderer Autoren nahezu gesichert war —, daß im fieberhaften Zustande die Wärmeproduktion gesteigert, nicht aber die Wärmeabgabe herabgesetzt ist, wie vor Jahren von mancher Seite angenommen wurde. Nun weisen aber jene groß angelegten und mit idealer Technik ausgeführten Versuche den Mangel auf, daß die Ergebnisse der direkten und indirekten Kalorimetrie um so weniger übereinstimmen, je größer die Änderung der Körpertemperatur in dem betreffenden Versuch war. Als Ursache dieser Unstimmigkeiten haben die genannten Autoren die Unmöglichkeit bezeichnet, die Körpertemperatur des menschlichen Körpers, die nach Regionen und Organen verschieden ist, auch nur einigermaßen genau zu bestimmen, und zwar auch, wenn ein empfindliches Widerstandsthermometer während der ganzen Versuchsdauer im Mastdarm belassen wird. Von der genauen Bestimmung der Körpertemperatur am Anfang und am Ende eines Versuchs hängt aber die Richtigkeit der Korrektion ab, die an der kalorimetrisch bestimmten Wärme*abgabe* angebracht

---

[1]) *Thorne M. Carpenter* and *Francis G. Benedict,* Amer. Journ. of Physiol. **24**, 203, 1919; *David P. Barr* and *Eugene F. du Bois,* Arch. of intern. Med. **21**, 627, 1918; *Warren Coleman, David P. Barr* and *Eugene F. du Bois,* ebendaselbst **29**, 567, 1922; *William S. Mc Cann,* ebendaselbst **29**, 33, 1922.

werden muß, um aus ihr die gesuchte Wärme*produktion* zu berechnen. Durch diese Korrektion wird, falls die Körpertemperatur während der Versuchsdauer ansteigt, die Wärmemenge ausgedrückt, die zur Erwärmung des Körpers verwendet, jedoch vom Kalorimeter nicht registriert wurde, daher zur registrierten Wärme hinzuaddiert werden muß.

Nun ist aber diese Korrektion, wenn es sich um Versuche am Menschen oder im allgemeinen um größere Tiere handelt und die Temperatursteigerung erheblich ist, eine sehr bedeutende, was an nachfolgendem Beispiel gezeigt werden soll. Beträgt die Körpertemperatur eines 70 kg schweren Menschen zu Versuchsbeginn 36,9, am Ende des Versuchs 38,4° C, so ist es klar, daß zur Erwärmung der Körpermasse, deren spezifische Wärme mit *Benedict* zu 0,83 angenommen werden kann, $70 \times 1{,}5 \times 0{,}83 = 87$ kg-Cal erforderlich sind, die vom Menschen produziert wurden und als Korrektion zu der gesamten Wärmeabgabe hinzuaddiert werden müssen. Nehmen wir nun, um a fortiori zu beweisen, für den 24stündigen Energieumsatz den recht hohen Wert von 3600 kg-Cal an, so ist sofort zu ersehen, daß in einem 4-Stunden-Versuch, währenddessen 600 kg-Cal produziert wurden, die Körpertemperatur aber um 1,5° C angestiegen ist, die zu letzterem Behufe verwendete Wärme $\frac{87 \times 100}{600} = 14$ Proz. der gesamten produzierten Wärme betragen hatte. Die Richtigkeit der direkten Kalorimetrie wird also in hohem Grade davon abhängen, ob die Änderung der Körpertemperatur während der Versuchsdauer richtig bestimmt werden kann, und gerade dies ist, wie wir gesehen haben, nach der Ansicht der amerikanischen Autoren am Menschen nicht der Fall. Sie ziehen auch die Konsequenz hieraus, indem sie ihren Schlußfolgerungen stets die indirekt aus dem O_2-Verbrauch und aus dem respiratorischen Quotienten berechneten Werte zugrunde legen.

Ohne zu diesem Standpunkt Stellung zu nehmen, muß ich dem Gefühle Ausdruck geben, daß es nicht leicht fällt, auf die Ergebnisse der direkten Kalorimetrie, welche doch zweifellos die idealere Bestimmungsart ist, zu verzichten, insbesondere bei der Prüfung einer so wichtigen Frage, wie es die Wärmeproduktion im Fieber ist. Andererseits begibt man sich, wenn man so vorgeht bzw. vorzugehen bemüßigt ist, des mächtigen Beweismittels, das in der Bestimmung der Wärmeproduktion nach zwei voneinander ganz verschiedenen Methoden, daher aus Daten, die voneinander unabhängig sind, gegeben ist.

Ein Ausweg aus diesem Dilemma bzw. die Möglichkeit, eine Übereinstimmung der direkten und indirekten Kalorimetrie bei der Untersuchung des Energieumsatzes im Fieber zu erlangen, findet sich in

dem Umstande, auf den *Hári*[1]) bei Verfolgung eines anderen Gedankens jüngst hingewiesen hatte, daß nämlich bei gleich großer Änderung der Körpertemperatur verschieden großer Tiere die Wärmemenge, die zur Steigerung der Körpertemperatur verwendet wird, im Verhältnis zur Wärmeproduktion um so geringer ist, je kleiner das Tier ist. Es soll sich z. B. wieder um einen vierstündigen Versuch handeln, diesmal an einer 0,020 kg schweren Maus, die in 24 Stunden etwa 9 kg-Cal, also während der Versuchsdauer 1,5 kg-Cal produziert hätte, und deren Körpertemperatur während dieser Zeit wiederum um 1,5° C angestiegen wäre. Die hierzu verwendete Wärme beträgt $0,020 \times 1,5 \times 0,83 = 0,025$ kg-Cal, also weniger als 1,7 Proz. der gesamten produzierten Wärme; daher auch in dem Falle, wenn die Körpertemperatur nicht ganz richtig bestimmt werden kann, das Endergebnis weit weniger beeinflußt wird als im Menschenversuch.

Man wird also auf die Übereinstimmung zwischen indirekter und direkter Kalorimetrie nicht verzichten müssen, wenn man — sofern dies möglich ist — die Versuche an kleinen Tieren ausführt, wie z. B. an Mäusen, oder, da an diesen unruhigen Tieren für den Energieumsatz ein durch Muskelbewegung nicht beeinflußter Wert recht schwer zu erlangen ist, an weißen Ratten, die sich zu solchen Versuchen geradezu in idealer Weise eignen. In sieben- bis zehnstündigen Versuchen gehört es gerade zur Seltenheit, wenn in den Versuchsprotokollen, bei genauester Beobachtung des Tieres, verzeichnet werden muß, daß „das Tier seine Lage im Kalorimeterraume gewechselt“ oder „das Gesicht mit den Pfoten geputzt“ hat.

In gewissen Beziehungen stehen allerdings meine Versuche denen der amerikanischen Autoren nach. Denn von einer fortlaufenden Registrierung der Körpertemperatur, wie dies am Menschen möglich ist, kann in unseren Versuchen keine Rede sein, daher auch nie gesagt werden kann, wann die Änderung der Körpertemperatur, die am Ende des Versuchs bei der Herausnahme des Tieres konstatiert wird, eigentlich eingetreten ist. Von diesem Mangel abgesehen, dürfte die Mitteilung einiger vor mehreren Jahren an weißen Ratten ausgeführten Versuchsreihen um so eher von Nutzen sein, weil es sich um Versuche handelt, in denen aus den oben angeführten Gründen die Übereinstimmung der Ergebnisse der direkten und indirekten Kalorimetrie nicht gefährdet ist.

A. Einrichtung der Versuche.

Versuchstemperatur und Versuchsdauer. Alle Versuche wurden in der Nähe der kritischen Umgebungstemperatur bei etwa 27° C ausgeführt. Die Dauer je eines Versuchs, d. h. des Aufenthaltes des Tieres im Kalorimeter betrug 7 bis 8 Stunden, zuweilen etwas mehr.

---

[1]) Diese Zeitschr. **149**, 447, 1924.

Die Versuchstiere. Aus Gründen, die an anderer Stelle[1]) ausführlich erörtert sind, habe ich von dem idealen Verfahren, die Tiere während der ganzen Dauer einer Versuchsreihe hungern zu lassen, abgesehen, und so auf die Bestimmung des Grundumsatzes, der ja nur am Hungertiere bestimmt werden kann, verzichten müssen; denn um vergleichbare Resultate zu erhalten, mußte ich vor allem darauf bedacht sein, daß die Tiere in allen Versuchen einer Reihe möglichst in derselben Verfassung sich befinden und wenigstens annähernd dasselbe Körpergewicht aufweisen. Um diesen Zweck zu erreichen, wurden alle Tiere vorangehend entweder mit Gerste allein oder aber mit Gerste und Mais vorgefüttert, von dem sie auch noch in der Nacht, die dem Versuch voranging, fressen konnten. Um dann noch etwaige Unterschiede im Ernährungszustande auszumerzen — ein oder das andere Tier konnte ja das Fressen seit vielen Stunden vor Versuchsbeginn verschmäht haben —, wurde dem Tiere sowohl in der Vor- als auch in der Hauptperiode unmittelbar vor Versuchsbeginn annähernd dieselbe Menge Speck vorgelegt. Die Tiere verzehrten den Speck innerhalb $1/4$ bis $1/2$ Stunde; gleich nachher wurde die Temperatur im Rectum gemessen, das Tier in den Käfig eingeschlossen, mitsamt diesem gewogen und in das Kalorimeter eingebracht. Nach Abschluß des Versuchs wurde das Tier aus dem Kalorimeter genommen, ihm nach Feststellung des Körpergewichtes und der -temperatur Gerste vorgelegt usw.

Die Erzeugung des künstlichen Fiebers. Um die Veränderung im Energieumsatz, die am fiebernden Tiere zu erwarten war, sicher feststellen zu können, wurde der Fieberversuch nicht eher ausgeführt, bis in der Vorperiode wenigstens zwei miteinander gut übereinstimmende Resultate erhalten wurden. Das Fieber habe ich in einigen Versuchsreihen durch subkutane Injektion von einigen Kubikzentimetern Milch, in anderen durch subkutane Injektion entsprechender Mengen von Kolitoxin erzeugt, das mir in liebenswürdiger Weise vom bakteriologischen Institut der Universität zur Verfügung gestellt wurde. Die Injektion des fiebererzeugenden Mittels erfolgte, nachdem das Tier genau wie in der Vorperiode den ihm am Morgen des Versuchs gereichten Speck verzehrt und ich seine Körpertemperatur festgestellt hatte. Nun habe ich aber nicht gewartet, bis der Beginn der Temperatursteigerung zu konstatieren war, sondern das Tier nach erfolgter Bestimmung seiner Temperatur, die nicht höher war als in den Vorversuchen, nach erfolgter Wägung (mitsamt dem Käfig) in das Kalorimeter eingebracht. Dem Fieberversuch folgte 48 Stunden später, unterdessen die Ratte wie sonst gefüttert wurde, wieder ein sogenannter Normalversuch. Zu

[1]) *Paul Hári*, diese Zeitschr. **152**, 445, 1924 (vorangehende Arbeit).

dieser Zeit hatte das Tier seine normale Körpertemperatur längst wieder erlangt (s. hierüber weiter unten).

Zu bemerken ist noch, daß an der Injektionsstelle außer der bekannten vorübergehenden Anschwellung infolge des relativ großen Volumens der injizierten Flüssigkeit nie eine lokale Reaktion nachzuweisen war. Die Ratten verhielten sich im Kalorimeter auch in den nächsten Stunden nach erfolgter Injektion so ruhig wie an anderen Tagen: von Kratzen der Injektionsstelle oder von Schmerzäußerung war nichts zu sehen.

Bestimmung des Energieumsatzes. Der Energieumsatz wurde einerseits im elektrischen Kompensationskalorimeter[1]) direkt bestimmt, andererseits aus dem O_2-Verbrauch und aus dem respiratorischen Quotienten berechnet. Zu dieser letzteren Berechnung diente der Mittelwert des O_2-Verbrauchs, wie er einerseits durch direkte Bestimmung, andererseits durch Berechnung aus der Körpergewichtsveränderung und den Ausgaben des Tieres während der Versuchsdauer erhalten wurde. Der entsprechende kalorische Wert des verbrauchten O_2 wurden, da ich den Harn-N nicht bestimmt habe, unter Vernachlässigung des verbrannten Eiweißes der Tabelle von *Magnus-Levy*[2]) entnommen.

Die ausgeführten Versuchsreihen. Ich verfüge insgesamt über fünf Versuchsreihen an drei Tieren:

Versuchsreihe 1, Ratte A. Vorangehend mit Gerste gefüttert.

Versuchsreihe 2, Ratte B. Vorangehend mit Gerste gefüttert.

Versuchsreihe 3, Ratte C. Junges, gut entwickeltes, starkes Weibchen; vorangehend wochenlang mit Gerste gefüttert.

Versuchsreihe 4, Ratte A. Etwa 3 Wochen nach Abschluß der Versuchsreihe 1 zu Versuchsreihe 4 verwendet; inzwischen mit Gerste gefüttert.

Versuchsreihe 5, Ratte B. Etwa 5 Wochen nach Abschluß der Versuchsreihe 2 zu Versuchsreihe 5 verwendet; inzwischen mit Gerste und mit Mais gefüttert.

B. Die Ergebnisse meiner Versuche.

Die Einzeldaten aller Versuche sind in den Tabellen III bis V dieser Mitteilung enthalten; die wichtigsten Ergebnisse aber nachfolgend teilweise an der Hand von Texttabellen dargestellt.

---

[1]) *Paul Hári*, Tierische Kalorimetrie, I. Mitteilung, diese Zeitschr. **152**, 445, 1924 (vorangehende Arbeit); und: Elektrische Kompensationskalorimetrie. Erscheint demnächst als Sonderkapitel in Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden.

[2]) *Adolf Magnus-Levy* in Noordens Handb. d. Pathol. des Stoffwechsels, II. Aufl., S. 207, 1906.

Die Fiebertemperatur. Der Temperaturanstieg, der durch die Milch bzw. durch das Kolitoxin erzeugt wurde, war, wie aus der Tabelle I hervorgeht, ein ganz ansehnlicher.

Tabelle I.

Versuch Nr.	Dauer des Versuchs Std.	Steigerung der Körpertemperatur °C	Injiziert
3	9,03	1,6	3 ccm Milch
7	7,70	1,6	3 „ „
11	7,10	1,3	3 „ „
18	7,82	0,2	0,3 „ Toxin
19	7,37	0,7	0,6 „ „
20	7,13	1,1	1,0 „ „
21	11,22	0,8	1,0 „ „
28	8,12	0,8	1,5 „ „
29	11,55	1,3	3,0 „ „

Auch hatte, wie aus Tabelle I hervorgeht, eine ausgesprochene Proportionalität zwischen der Menge der injizierten Flüssigkeit und der erzeugten Temperatursteigerung bestanden: in den drei ersten Versuchsreihen, in denen die Tiere die gleichen Mengen an Milch erhielten, war auch die Temperatursteigerung angenähert dieselbe; in den Versuchsreihen mit Kolitoxin aber im allgemeinen um so größer, je mehr das Tier vom Toxin erhalten hatte.

Bemerkenswert war in allen Versuchsreihen das Verhalten der Körpertemperatur nach Abschluß des Fieberversuchs. Ich habe nämlich in den meisten Fieberversuchen etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden nachdem das Tier aus dem Kalorimeter genommen und seine Körpertemperatur bestimmt wurde, diese Bestimmung wiederholt und beobachten können, wie rasch die fieberhaft gesteigerte Körpertemperatur, wenn das Tier bei Zimmertemperatur gehalten wird, zur normalen bzw. in einzelnen Fällen auch darunter absinkt, wie dies aus der Tabelle II zu ersehen ist.

Tabelle II.

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Körpertemperatur am Ende des Versuchs °C	Körpertemperatur $1\frac{1}{2}$ Stunden später °C
1	3	38,3	37,1
2	7	38,1	36,6
3	11	38,6	37,5
5	28	36,9	34,9
	29	36,9	34,9

Es zeugt dieser Befund einerseits für die besondere Labilität der Körpertemperatur der Ratten, auf die bereits von *Goto* in seiner aus

Tabelle III. Allgemeine Versuchsda[illegible]

Versuchsreihe	Nummer des Versuchs	Tier	Datum des Versuchs 1919	Dauer des Versuchs	Mittlere Kalorimeter-temperatur °C	Körpertemperatur am Beginn des Versuchs °C	Körpertemperatur am Ende des Versuchs °C	Gewicht des Tierbehälters + Tier inkl. De[illegible] am Beginn des Versuchs (a) g	am Ende des Versuchs (b) g
	1		29. X.	7h55′	27,7	36,9	36,9	396,22	394,[illegible]
	2		31. X.	7 87	27,5	36,8	36,9	399,67	397,[illegible]
1	3	A	2. XI.	9 03	27,8	36,7	38,3	402,12	398,[illegible]
	4		4. XI.	7 87	27,6	36,8	36,6	389,55	387,[illegible]
	5		5. XI.	7 73	28,2	36,6	36,4	425,57	421,[illegible]
	6		7. XI.	7 37	28,1	36,5	36,6	436,07	431,[illegible]
2	7	B	9. XI.	7 70	28,4	36,5	38,1	443,03	436,[illegible]
	8		11. XI.	7 00	28,4	36,6	36,6	422,95	419,[illegible]
	9		13. XI.	7 37	27,8	37,1	37,2	372,38	370,[illegible]
	10		15. XI.	7 30	27,6	37,3	37,2	378,12	376,[illegible]
3	11	C	17. XI.	7 10	26,6	37,3	38,6	376,12	371,[illegible]
	12		19. XI.	7 90	26,5	37,1	37,0	376,46	374,[illegible]
	13		24. XI.	7 47	27,8	37,0	37,8	380,65	378,[illegible]
	14		26. XI.	8 33	27,5	37,0	37,6	383,95	381,[illegible]
	15		28. XI.	8 20	27,1	36,8	36,8	—	—
	16		30. XI.	8 22	28,2	37,3	36,8	431,36	428,[illegible]
	17		2. XII.	8 08	26,8	37,2	36,9	430,78	428,[illegible]
4	18	A	4. XII.	7 82	26,9	37,2	37,4	424,04	422,[illegible]
	19		6. XII.	7 37	27,4	37,1	37,8	425,82	423,[illegible]
	20		8. XII.	7 13	27,7	36,9	38,0	427,14	424,[illegible]
	21		10. XII.	11 22	27,6	36,6	37,4	431,54	427,[illegible]
	22		12. XII.	8 07	27,0	36,8	36,1	429,12	427,[illegible]
	23		16. XII.	6 55	27,1	36,1	36,4	433,45	431,[illegible]
	24		18. XII.	6 82	26,7	35,7	36,2	453,84	451,[illegible]
	25		20. XII.	6 52	26,3	35,7	36,2	464,80	462,[illegible]
	26		22. XII.	8 02	25,7	36,0	35,8	469,80	466,[illegible]
5	27	B	24. XII.	7 98	27,1	36,5	36,0	467,31	463,[illegible]
	28		28. XII.	8 12	26,9	36,1	36,9	440,29	437,[illegible]
	29		30. XII.	11 55	26,7	35,6	36,9	442,96	438,[illegible]
	30		1. I. 1920	7 37	28,3	35,3	36,3	439,18	436,[illegible]

diesem Institut hervorgegangenen Mitteilung[1]) hinweist und die ich vorangehend bereits an Mäusen beobachtet hatte[2]), andererseits liefert

[1]) *K. Goto*, diese Zeitschr. **135**, 110, 1923.
[2]) *Z. Aszódi*, ebendaselbst **118**, 74, 1921.

Daten für den O_2-Verbrauch.

eres nes per- icht	Während der Versuchsdauer in der Ventilationsluft abgeführt H_2O (c) g	CO_2 (d) g	O_2-Verbrauch berechnet b − a + c + d g	O_2-Verbrauch direkt bestimmt g	Der berechnete O_2 größer (+) oder kleiner (−) als der direkt bestimmte Proz.	Respiratorischer Quotient aus dem Mittelwert des berechneten und direkt bestimmten O_2	Vor Versuchsbeginn gefressen bzw. injiziert erhalten
,07	1,927	2,191	1,94	1,94	± 0	0,822	2,50 g Speck
,30	2,329	2,175	1,98	1,93	+ 2,5	0,807	2,25 g „
,77	2,943	3,034	2,73	2,66	+ 2,6	0,819	1,07 g „ 3 ccm Milch subkutan
,27	1,847	2,200	1,98	1,99	— 0,5	0,806	2,20 g Speck
,23	3,859	2,998	2,59	2,64	— 2,0	0,835	4,12 g Speck
,16	3,859	2,811	2,56	2,58	— 1,0	0,795	3,45 g „
,44	5,815	3,810	3,18	3,20	— 0,7	0,869	3,43 g „ 3 ccm Milch subkutan
,89	3,611	2,906	2,59	2,60	— 0,4	0,815	3,40 g Speck
,59	2,261	2,108	2,06	2,01	+ 2,5	0,754	2,03 g Speck
,05	2,047	2,142	2,09	2,01	+ 4,0	0,761	1,13 g „
,78	1,924	2,139	2,09	2,02	+ 3,5	0,757	0,95 g „ 3 ccm Milch subkutan
,12	1,606	2,154	2,04	2,05	— 0,5	0,766	1,12 g Speck
,89	2,036	2,156	2,01	2,08	— 3,4	0,767	1,39 g Speck
,17	1,980	2,340	2,12	2,10	+ 1,0	0,802	2,24 g „
,21	1,810	2,310	—	2,08	—	0,808	2,05 g „
,83	2,028	2,570	2,12	2,14	— 1,0	0,878	1,83 g „
,51	1,787	2,506	2,06	2,07	— 0,5	0,882	2,47 g „
,01	1,600	2,218	2,04	2,03	+ 0,5	0,792	1,44 g „ 0,3 ccm Kolitoxin
,12	1,673	2,280	2,01	2,04	— 1,5	0,819	1,60 g Speck 0,6 ccm Kolitoxin
,90	1,881	2,327	1,97	1,94	+ 1,5	0,867	1,31 g Speck 1,0 ccm Kolitoxin
,46	3,483	3,683	3,33	3,29	+ 1,0	0,810	2,27 g Speck 1,0 ccm Kolitoxin
,96	1,750	2,344	2,02	2,00	+ 1,0	0,846	1,73 g Speck
,66	1,860	2,221	2,14	2,10	+ 2,0	0,761	2,65 g Speck
,30	2,238	2,428	2,08	2,10	— 1,0	0,846	2,80 g „
,31	1,821	2,463	2,03	2,10	— 3,5	0,866	4,25 g „
,96	2,753	3,187	2,67	2,70	— 1,2	0,864	4,28 g „
,73	3,200	3,104	2,67	2,69	— 0,7	0,841	3,54 g „
,03	2,750	3,052	2,71	2,73	— 0,7	0,815	4,22 g „ 1,5 ccm Kolitoxin
,02	4,318	4,542	4,07	4,05	+ 0,5	0,814	3,54 g Speck 3,0 ccm Kolitoxin
,67	2,448	2,532	2,24	2,21	+ 1,3	0,830	3,54 g Speck

er einen beredten Beweis dafür, wie nötig es ist, solche Versuche bei oder in der Nähe der kritischen Temperaturgrenze auszuführen. Hätte ich dies nicht getan, so wäre im Sinne der Ausführungen von *Hári* in der ersten Mitteilung der „Tierischen Kalorimetrie" die Steigerung der Körpertemperatur vielleicht oder sogar wahrscheinlich ausgeblieben;

ich hätte ein falsches Bild von den Vorgängen bekommen und, von falschen Prämissen ausgehend, schlechterdings auch falsche Schlüsse gezogen.

O_2-Verbrauch. Die durch direkte Bestimmung und durch Berechnung ermittelten Werte des O_2-Verbrauchs stimmen miteinander durchweg gut überein (s. Tabelle V), indem die größte Abweichung nur 3,5 Proz. beträgt, im Mittelwert aller Versuche der prozentuale Unterschied gar gleich Null ist. Diese Übereinstimmung ist aus dem Grunde sehr wertvoll, weil hierdurch der O_2-Verbrauch und dadurch auch das Ergebnis der indirekten Kalorimetrie sichergestellt ist.

Der respiratorische Quotient. Der tiefe Einblick in den intermediären Stoffwechsel, den man in vielen Fällen aus dem respiratorischen Quotienten erhalten kann, läßt es begreiflich erscheinen, daß alle Anstrengungen gemacht wurden, um ihn im fieberhaften Zustande einwandfrei festzustellen. Aus den Arbeiten von *A. Lilienfeld*[1]), *Finkler*[2]), *Kraus*[3]), *E. Grafe*[4]) und namentlich aus den neuesten Mitteilungen der eingangs erwähnten amerikanischen Autoren geht es als gesichert hervor, daß im Gegensatz zu den älteren Angaben von *O. Riethus*[5]), *A. Loewy*[6]), *N. Svenson*[7]), *F. Rolly* und *O. Meltzer*[8]), *F. Verzár*[9]) der respiratorische Quotient im Fieber *nicht herabgesetzt* ist. Wenn ich trotzdem einiges über die in meinen Versuchen beobachteten respiratorischen Quotienten anführe, so geschieht dies nicht, um zu dieser ohnehin bereits geklärten Frage Stellung zu nehmen, sondern um auf die Ursache hinzuweisen, warum die von mir gefundenen Quotienten von Versuch zu Versuch so auffallende Unterschiede aufweisen. Diese Unterschiede (s. Tabelle III) rühren einfach davon her, daß die Tiere aus den S. 459 angeführten Gründen nicht nur knapp vor Versuchsbeginn Speck erhielten, sondern auch während der dem kalorimetrischen Versuch vorangehenden Nacht von der ihnen vorgelegten Gerste fressen konnten. Hat nun die Ratte kurz (einige Stunden) vor Versuchsbeginn von der Gerste gefressen, so mußte der Quotient unter dem Einfluß der kohlenhydratreichen Nahrung einen höheren Wert aufweisen, der nur durch den vor Versuchsbeginn genossenen Speck mehr oder weniger herabgedrückt wurde. Waren hingegen viele Stunden, vielleicht die halbe Nacht, verstrichen, seitdem die Ratte von der

[1]) *A. Lilienfeld*, Arch. f. d. ges. Physiol. **82**, 293, 1883.
[2]) *Finkler*, ebendaselbst **29**, 89, 1882.
[3]) *Kraus*, Zeitschr. f. klin. Med. **18**, 160, 1891.
[4]) *E. Grafe*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **101**, 209, 1910.
[5]) *O. Riethus*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **44**, 239, 1890.
[6]) *A. Loewy*, Virchows Arch. **126**, 218, 1891.
[7]) *N. Svenson*, Zeitschr. f. klin. Med. **43**, 86, 1901.
[8]) *F. Rolly* und *O. Meltzer*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **97**, 252, 1919.
[9]) *F. Verzár*, diese Zeitschr. **34**, 41, 1911.

Tabelle IV. Direkte Kalorimetrie.

Versuchsreihe	Nummer des Versuchs	Tier	Trockene Ventilationsluft auf Normalvolumen reduziert pro 24 Std.	Mittlere Temperaturdifferenz zwischen aus- u. eintret. Luft	In 24 Std. Wärme abgegeben: an die Ventilationsluft	an das Kalorimeter	durch H_2O-Verdampfg.	Gesamte Wärmeabgabe (a)	Korrektion: für d. verringerte Körpergewicht pro 24 Stunden (b)	für die Änderung in der Körpertemperatur während der Versuchsdauer (c)	Wärmeproduktion pro 24 Stunden (a + b + c)	Anmerkung
			Liter	°C	g-Cal	g-Cal	g-Cal	g-Cal	g-Cal	g-Cal	kg-Cal	
1	1	A	1130	2,22	771	16 262	3 562	20 595	— 47	—	20,55	
	2		1020	1,76	550	15 219	4 130	19 899	— 66	+ 16	19,85	
	3		987	2,14	648	18 050	4 548	23 246	— 97	+ 235	23,38	3 ccm Milch
	4		960	1,81	534	16 274	3 275	20 083	— 48	— 29	20,01	
2	5	B	1036	2,25	715	20 271	6 967	27 953	— 133	— 34	27,79	
	6		1111	2,35	801	19 880	7 307	27 988	— 104	+ 18	27,90	
	7		1113	2,38	813	22 708	10 540	34 061	— 132	+ 286	34,22	3 ccm Milch
	8		1199	2,67	983	21 396	7 199	29 578	— 107	+ 18	29,49	
3	9	C	1007	1,85	575	16 604	4 281	21 460	— 69	+ 14	21,41	
	10		1011	1,97	612	16 139	3 663	20 414	— 66	— 13	20,34	
	11		1060	2,23	726	17 289	3 782	21 797	— 77	+ 180	21,90	3 ccm Milch
	12		1017	1,70	531	17 195	2 837	20 563	— 58	— 13	20,49	
4	13	A	1000	1,84	564	16 971	3 804	21 339	— 54	+ 107	21,39	
	14		900	1,94	536	15 641	3 317	19 494	— 49	+ 82	19,53	
	15		908	1,71	476	16 713	3 081	20 270	— 65	—	20,20	
	16		848	1,83	477	17 462	3 443	21 382	— 60	— 73	21,25	
	17		790	1,53	371	18 016	3 087	21 474	— 57	— 44	21,37	
	18		827	1,57	398	17 721	2 855	20 974	— 46	+ 28	20,96	0,3 ccm Kolitoxin
	19		760	1,49	348	18 349	3 168	21 865	— 51	+ 99	21,91	0,6 ccm Kolitoxin
	20		816	2,13	534	17 356	3 682	21 572	— 57	+ 157	21,67	1,0 ccm Kolitoxin
	21		715	2,15	472	18 942	4 352	23 766	— 62	+ 116	23,82	1,0 ccm Kolitoxin
	22		817	1,96	491	16 940	3 026	20 457	— 49	— 101	20,31	
5	23	B	830	1,48	377	21 717	3 963	26 057	— 93	+ 44	26,01	
	24		904	1,68	435	20 319	4 580	25 334	— 79	+ 76	25,33	
	25		943	1,72	498	21 121	3 898	25 517	— 89	+ 80	25,51	
	26		1167	2,02	724	21 358	4 791	26 873	— 93	— 33	26,75	
	27		993	2,04	622	20 725	5 596	26 943	— 120	— 81	26,74	
	28		1039	2,24	712	21 371	4 726	26 809	— 78	+ 125	26,86	1,5 ccm Kolitoxin
	29		949	2,30	670	22 662	5 217	28 549	— 90	+ 203	28,66	3,0 ccm Kolitoxin
	30		1016	2,11	658	18 576	4 636	23 870	— 52	+ 154	23,97	

Tabelle V. Indirekte Kalorimetrie; Vergleich zwischen direkter und indirekter Kalorimetrie.

Versuchsreihe	Nummer des Versuchs	Tier	O_2-Verbrauch pro 24 Stunden; Mittelwert aus berechnetem u. direkt bestimmtem Wert	Kalorischer Wert von 1 Liter O_2	Wärmeprod. pro 24 Std. u. 1 kg: a. d. O_2-Verbrch. (Mittelwert d. berechnet. u. direkt bestimmt. Werte)	Wärmeprod. pro 24 Std. u. 1 kg: direkt kalorimetrisch bestimmt	Wärmeprod. pro 24 Std. u. 1 qm Körperoberfläch.: aus dem O_2-Verbrauch (Mittelwert der berechneten und direkt bestimmten Werte)	Wärmeprod. pro 24 Std. u. 1 qm Körperoberfläch.: direkt kalorimetrisch bestimmt	Die a. d. O_2-Verbrauch berechnete Wärmeproduktion ergibt mehr (+) oder weniger (—) als die direkte Kalorimetrie	Anmerkung
			Liter	kg-Cal	kg-Cal	kg-Cal	kg-Cal	kg-Cal	Proz.	
1	1	A	4,31	4,796	118,1	117,4	726	722	+ 0,7	
	2		4,18	4,779	112,0	111,3	693	689	+ 0,6	
	3		5,13	4,794	133,6	130,1	829	807	+ 2,5	3 ccm Milch
	4		4,23	4,775	115,4	116,7	715	707	+ 1,0	
2	5	B	5,68	4,813	132,0	134,1	858	872	— 1,5	
	6		5,85	4,763	130,1	130,3	855	857	— 0,2	
	7		6,95	4,844	153,7	155,9	1019	1033	— 1,1	3 ccm Milch
	8		6,22	4,789	138,0	136,6	909	901	+ 1,0	
3	9	C	4,63	4,713	131,8	129,3	795	780	+ 2,0	
	10		4,41	4,721	127,7	124,7	767	749	+ 2,7	
	11		4,86	4,716	142,6	136,2	854	814	+ 5,0	3 ccm Milch
	12		4,25	4,728	125,5	128,0	749	764	— 1,9	
4	13	A	4,59	4,729	134,1	132,2	803	791	+ 1,5	
	14		4,25	4,772	122,8	118,2	740	713	+ 3,8	
	15		4,26	4,780	119,5	118,7	728	723	+ 0,7	
	16		4,35	4,865	119,7	120,2	738	741	— 0,4	
	17		4,30	4,869	118,6	121,2	731	746	— 2,0	
	18		4,37	4,759	122,3	123,3	745	750	— 0,7	0,3 ccm Kolitoxin
	19		4,62	4,794	129,0	127,6	788	779	+ 1,1	0,6 ccm Kolitoxin
	20		4,60	4,851	129,1	125,4	790	767	+ 3,0	1,0 ccm Kolitoxin
	21		4,98	4,783	135,0	135,0	832	832	—	1,0 ccm Kolitoxin
	22		4,19	4,826	115,6	116,1	710	713	— 0,4	
5	23	B	5,44	4,721	143,8	145,6	895	907	— 1,3	
	24		5,14	4,826	134,6	137,4	842	860	— 2,1	
	25		5,33	4,833	131,9	130,6	840	832	— 1,0	
	26		5,62	4,833	135,8	133,8	873	860	+ 1,5	
	27		5,65	4,820	138,4	135,9	885	869	+ 1,8	
	28		5,63	4,789	142,0	141,3	897	893	+ 0,4	1,5 ccm Kolitoxin
	29		5,90	4,788	147,9	150,0	936	950	— 1,4	3,0 ccm Kolitoxin
	30		5,07	4,807	129,9	127,8	817	804	+ 1,6	

Gerste gefressen hatte, so mußte ein niedriger (Hunger-) Quotient gefunden werden, der auch durch den genossenen Speck aus bekannten Gründen nicht erhöht wird.

Der Energieumsatz. Die allgemeinen Daten, sowie die Daten für die Bestimmung des O_2-Verbrauches sind in Tabelle III, das Ergebnis der direkten Kalorimetrie in der Tabelle IV mitgeteilt, Daten und Ergebnis der indirekten Kalorimetrie, sowie der Vergleich zwischen direkter und indirekter Kaloriemetrie sind in Tabelle V enthalten. In den Stäben 6 bis 9 dieser Tabelle sind die Ergebnisse der direkten und indirekten Kalorimetrie auf 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht bzw. auch auf 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche umgerechnet. Durch die gleichzeitige direkte und indirekte Kalorimetrie sind die für den Energieumsatz erhaltenen Werte sichergestellt, da, wie aus einem Vergleich der in den Stäben 6 und 7 bzw. 8 und 9 der Tabelle V enthaltenen Daten hervorgeht, die nach beiden Methoden erhaltenen Werte miteinander durchweg gut übereinstimmen. Der maximale Unterschied von 5 Proz. in Versuch 11, bzw. von 3,8 Proz. in Versuch 14 sind vereinzelte Vorkommnisse; denn in allen übrigen Versuchen war der Unterschied unterhalb 3 Proz. geblieben und hat im Mittelwert aller Versuche 0,6 Proz. betragen (um soviel mehr habe ich durch indirekte als durch direkte Kalorimetrie erhalten).

Um den Einfluß des Fiebers auf den Energieumsatz zahlenmäßig bewerten zu können, habe ich in allen Versuchsreihen die auf 1 qm Körperoberfläche bezogenen Werte der Vorperiode sowohl wie auch der Nachperiode zu einem Mittelwert vereinigt und die vom jeweiligen Fiebertage erhaltenen Werte mit diesem Mittelwert verglichen. Die Berechnung ist für die indirekte Kalorimetrie sowohl, als auch für die direkte durchgeführt, und sind die Ergebnisse aus Tabelle VI zu ersehen.

Tabelle VI.

Versuchsreihe	Tier	Fieberfrei kg-Cal pro 1 qm		Fieber kg-Cal pro 1 qm		Zuwachs kg-Cal pro 1 qm		Zuwachs Proz.		Temperatur-steigerung
		indirekt	direkt	indirekt	direkt	indirekt	direkt	indirekt	direkt	°C
1	A . . .	711	706	829	807	118	101	16,5	14,3	1,6
2	B . . .	874	877	1019	1033	145	156	16,6	17,8	1,6
3	C . . .	770	764	854	814	84	50	11,0	6,6	1,3
4	A . . .	729	727	745	750	16	23	2,2	3,1	0,2
		729	727	788	779	59	52	8,1	7,1	0,7
		729	727	790	767	61	40	8,3	5,5	1,1
		729	727	832	832	103	105	14,1	14,4	0,8
5	B . . .	851	839	897	893	46	54	5,4	6,4	0,8
		851	839	936	950	85	111	10,0	13,2	1,3

Bei der erwähnten Berechnung des Mittelwertes der Vor- und der Nachperiode konnte es fraglich erscheinen, ob ich in den Versuchsreihen 4 und 5 die Werte vom ersten Versuchstage, die wesentlich höher sind als die von den nachfolgenden Tagen, mit berücksichtigen soll oder nicht? Da ich eben darum in diesen beiden Versuchsreihen den Energieumsatz der Vorperiode vorsichtshalber nicht wie in den Versuchsreihen 1, 2 und 3 an je 2 Tagen, sondern an je 5 Tagen bestimmt habe, dürfte es nicht von Belang sein, ob jener Mittelwert aus 4 oder aus 5 Tagen berechnet ist. Trotzdem habe ich es vorgezogen, jene höheren Werte der ersten Versuchstage bei der Berechnung nicht mit heranzuziehen, und zwar aus dem Grunde, weil das Körpergewicht der Tiere am ersten Tage beider Versuchsreihen ein wesentlich geringeres als an den nächsten Tagen war. Der höhere Wert des auf 1 kg bzw. 1 qm reduzierten Energieumsatzes an diesen Tagen konnte mit dem geringeren Körpergewicht in dem Sinne in Zusammenhang gebracht werden, daß die beiden Tiere in den späteren Versuchstagen Fett in erheblicheren Mengen angesetzt hatten und infolge des bekannt trägen Stoffwechsels des Fettgewebes auch der reduzierte Wert des Energieumsatzes herabgedrückt wurde.

Aus Tabelle VI ist ersichtlich, daß die *Steigerung des Energieumsatzes am Fiebertage in keiner einzigen Versuchsreihe zu vermissen war, ob der Vergleich auf Grund der Daten der direkten oder der indirekten Kalorimetrie erfolgte.* Auch ist der nach beiden Methoden bestimmte Zuwachs überraschend gleich, so daß an der Richtigkeit des Resultates nicht gezweifelt werden kann. Endlich läßt sich auch, was sehr bemerkenswert ist, konstatieren, daß *die Steigerung des Energieumsatzes der Steigerung der Körpertemperatur im großen und ganzen proportional ist.*

Verhalten der Wärmeabgabe während des Anstieges der Körpertemperatur. Da, wie bereits erwähnt, die Messung der Körpertemperatur während der Dauer des kalorimetrischen Versuchs ausgeschlossen war, konnte in meinen Versuchen nicht festgestellt werden, wann der Temperaturanstieg eigentlich begonnen hat. Wäre eine solche Feststellung möglich gewesen oder hätte ich wie die amerikanischen Autoren die Wärmeabgabe stündlich oder zumindest in zweistündige Perioden eingeteilt bestimmt, so wäre auch die schon seit langem strittige und auch zurzeit noch nicht entschiedene Frage zu lösen gewesen, wie sich eigentlich Wärme*produktion* und Wärme*abgabe* während der Temperatursteigerung zu Beginn des Fiebers zueinander verhalten? Denn es ist ja denkbar, daß der Temperaturanstieg erfolgt, weil bei unveränderter Wärmeproduktion die Wärmeabgabe eingeschränkt ist (was jedoch kaum wahrscheinlich ist), oder weil die Wärmeproduktion bei unveränderter Wärmeabgabe ansteigt, oder aber endlich, weil sowohl die

Wärmeproduktion wie auch die Wärmeabgabe gesteigert ist, jedoch erstere in höherem Grade. Leider war es bei der Einrichtung unserer Versuche nicht möglich, diese Frage zu entscheiden; denn einerseits habe ich, wie erwähnt, die Wärmeabgabe nicht periodenweise bestimmt, andererseits konnte mit den kalorimetrischen Ablesungen, wie an jedem anderen Tierkalorimeter, nicht vor Eintritt des Wärmegleichgewichts, das ist vor Ablauf von 1 bis 1½ Stunden nach Versuchsbeginn, begonnen werden. Durch letzteren Umstand allein wird es schon erklärlich, daß bei raschem Eintritt (1 bis 1½ Stunden) des Fiebers eine etwaige Einschränkung der Wärmeabgabe sich der Beobachtung in meinen Versuchen entziehen mußte. Zog sich jedoch der Anstieg der Körpertemperatur bis in die dritte Stunde oder noch länger hin und war er tatsächlich mit einer Einschränkung der Wärmeabgabe verbunden, so hätte sich dies durch eine Verringerung der durch Strahlung und Leitung an unser empfindliches Kalorimeter abgegebenen Wärme sicher kundgegeben, und zwar durch eine entsprechende Änderung des Thermostromes zwischen Tierseite und der Kompensationsseite bzw. in einer Änderung des Galvanometerausschlages. Von einer solchen Änderung war aber nichts zu sehen, so daß alles in allem gesagt werden muß: Es hatte keines der in meinen Versuchen beobachteten Momente auf eine Einschränkung der Wärmeabgabe zur Zeit des Fieberbeginns hingewiesen. Hierzu muß ich aber, um kein Mißverständnis aufkommen zu lassen, folgendes bemerken: daß die Wärmeabgabe im Fieberbeginn im Verhältnis zur gesteigerten Wärmeproduktion zurückbleibt, entweder weil sie gar keine Änderung erfährt, oder weil sie nicht so rasch ansteigt wie die Wärmeproduktion, ist selbstverständlich und braucht nicht erst erwiesen zu werden, denn sonst könnte es ja überhaupt nicht zu einer Steigerung der Körpertemperatur kommen!

Beteiligung der Wasserverdampfung an der Wärmeabgabe. In einer Anzahl älterer Arbeiten finden wir als Ergebnis der Versuche mitgeteilt, daß die Wasserverdampfung im fieberhaften Zustande an der gesamten Wärmeabgabe in höherem Maße beteiligt ist als bei normaler Körpertemperatur; desgleichen auch in einer neueren Mitteilung von *Colemann*, *Barr* und *Dubois*[1]), während andere Autoren, wie *Krehl* und *Matthes*[2]), später auch *Carpenter* und *Benedict*[3]) diesbezüglich keinen Unterschied zwischen normalem und fieberhaftem Zustande finden.

Wie aus Tabelle VII ersichtlich, war es von meinen fünf Versuchsreihen nur eine einzige, und zwar Versuchsreihe 2, in der am Fiebertage

---

[1]) l. c.

[2]) *L. Krehl* und *H. Matthes*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 38, 284, 1897.

[3]) l. c.

Tabelle VII.

Versuchsreihe	Nummer des Versuchs	Tier	Von der 24stündigen Wärmeabgabe entfallen auf: Leitung und Strahlung kg-Cal	Wasserverdampfung kg-Cal	Leitung und Strahlung Proz.	Wasserverdampfung Proz.	Anmerkung
1	1	A	17,03	3,56	83	17	
	2		15,77	4,13	79	21	
	3		18,70	4,55	80	20	Fieber
	4		16,81	3,28	84	16	
2	5	B	20,99	6,97	75	25	
	6		20,68	7,31	74	26	
	7		23,52	10,54	69	31	Fieber
	8		22,38	7,20	76	24	
3	9	C	17,18	4,28	80	20	
	10		16,75	3,66	82	18	
	11		18,02	3,78	83	17	Fieber
	12		17,73	2,84	86	14	
4	13	A	17,54	3,80	82	18	
	14		16,18	3,32	83	17	
	15		17,19	3,08	85	15	
	16		17,94	3,44	84	16	
	17		18,39	3,09	86	14	
	18		18,12	2,86	86	14	Fieber
	19		18,70	3,17	86	14	Fieber
	20		17,89	3,68	83	17	Fieber
	21		19,41	4,35	82	18	Fieber
	22		17,43	3,03	85	15	
5	23	B	22,09	3,96	85	15	
	24		20,75	4,58	82	18	
	25		21,62	3,90	85	15	
	26		22,08	4,79	82	18	
	27		21,35	5,60	79	21	
	28		22,08	4,73	82	18	Fieber
	29		23,33	5,22	82	18	Fieber
	30		19,23	4,64	81	19	

die Wasserverdampfung an der Wärmeausgabe in ausgesprochen stärkerem Maße als bei normaler Temperatur beteiligt ist. Größeres Interesse beansprucht der folgende Umstand. Berechnet man innerhalb jeder Versuchsreihe den Mittelwert der prozentualen Beteiligung der Wasserverdampfung an sämtlichen fieberfreien Tagen, so ergeben sich, wie aus der weiter unten befindlichen Zusammenstellung ersichtlich — mit Ausnahme der Versuchsreihe 2 —, recht konstante Werte. Daß aber dies kein Zufall ist, geht aus einem Vergleich dieser Werte mit denjenigen hervor, die *K. Goto*[1]) in seinen in diesem Institut ausgeführten Versuchen erhielt. Diese Versuche wurden bei verschiedensten

[1]) l. c., S. 118.

Außentemperaturen ausgeführt; sollen nun ihre Ergebnisse mit den meinigen verglichen werden, so können hierzu nur diejenigen herangezogen werden, in denen die Versuchstemperatur der von mir verwendeten ähnlich ist. Als solche können die bei 25 und 28° C ausgeführten gelten. Die für je eine Ratte am ersten Hungertage bei diesen Außentemperaturen erhaltenen Werte sind, zu je einem Mittelwert vereinigt, in nachstehender Zusammenstellung enthalten:

Aszódi		*Goto*	
Versuchsreihe 1	18 Proz.	Ratte 1	19 Proz.
„ 2	25 „	„ 2	23 „
„ 3	17 „	„ 3	19 „
„ 4	16 „	„ 4	17 „
„ 5	16 „		

Man sieht, daß die Übereinstimmung zwischen den beiden Gruppen von Versuchsreihen eine sehr gute ist, daher sich auch als sicher annehmen läßt, daß diese Werte für erwachsene weiße Ratten bei der besagten Versuchstemperatur direkt charakteristisch sind.

Bedenkt man weiter, daß von den amerikanischen Experimentatoren an Menschen in einer Umgebungstemperatur von etwa 23° C ein ebenfalls konstanter Wert, 20 bis 25 Proz., gefunden wurde, ein Wert, der von dem an Ratten konstatierten nicht sehr weit entfernt ist, so ist dies ein Umstand, der zu denken gibt und auf den gelegentlich noch zurückgekommen werden soll.

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich kurz wie folgt zusammenfassen:

1. Der durch Milch bzw. durch Kolitoxin erzeugte Temperaturanstieg im Rattenkörper ist der Menge des angewendeten Fieber erzeugenden Mittels annähernd proportional.

2. Der respiratorische Quotient wird durch den fieberhaften Zustand an sich nicht geändert.

3. Im fieberhaften Zustande ist der Energieumsatz gegen die Norm deutlich erhöht und ist die Zunahme dem Anstieg der Körpertemperatur angenähert proportional.

4. Dafür, daß zu Beginn des Fiebers die Wärmeabgabe eingeschränkt wäre, ließ sich kein Anhaltspunkt gewinnen.

5. Im fieberhaften Zustande ist gleich der Wärmeproduktion selbstverständlich auch die Wärmeabgabe erhöht. An dieser Abgabe sind Strahlung und Leitung einerseits, Wasserverdampfung andererseits in demselben Maße beteiligt wie bei normaler Körpertemperatur.

Tierische Kalorimetrie.

III. Mitteilung:

Energieumsatz kleiner Tiere bei chronischer Unterernährung.

Von

Zoltán Aszódi.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl ungar. Universität Budapest.)

(Eingegangen am 22. September 1924.)

Seit den einschlägigen Untersuchungen von *Rubner*[1]) und *Voit*[2]) ist es bekannt, daß der Energieumsatz eines Tieres im protrahierten Hungerzustande nicht nur nach Maßgabe des abnehmenden Körpergewichts, also in absoluten Werten, abnimmt, sondern auch, wenn diese Werte auf die Einheit des Körpergewichts bzw. der Körperoberfläche bezogen werden. Von *Zuntz*[3]) liegen ähnliche Beobachtungen bezüglich der chronischen Unterernährung vor. In allen diesen Versuchen wurde der Energieumsatz indirekt aus den Zersetzungen bzw. aus dem O_2-Verbrauch berechnet; die *Zuntz*schen Ergebnisse wurden aber später von *Hári*[4]) durch mehrere Versuchsreihen bestätigt, in denen er den Energieumsatz durch direkte Kalorimetrie im *Rubner*schen Respirationskalorimeter bestimmt und diese Ergebnisse meistens auch durch indirekte Kalorimetrie kontrolliert hatte. An einigen von den sechs Hunden *Háris* ging mit dem abnehmenden Körpergewicht infolge der ungenügenden Ernährung eine mehr oder minder starke Abnahme des auf die Einheit der Körperoberfläche berechneten Energieumsatzes einher, obwohl durch den Energiegehalt der den Tieren an den Fütterungstagen gereichten Milch nicht weniger als 50 bis 70 Proz. ihres Hungerbedarfs gedeckt waren! Der Abfall im Energieumsatz

---

[1]) *M. Rubner*, Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung.

[2]) *E. Voit*, Zeitschr. f. Biol. **41**, 147, 1901.

[3]) *N. Zuntz*, diese Zeitschr. **55**, 341, 1913.

[4]) *P. Hári*, ebendaselbst **66**, 1, 1914.

war trotzdem so bedeutend, daß er sich auch bei einem Vergleich der späteren Fütterungstage mit den anfänglichen Hungertagen zeigte. Aus einem Vergleich dieser Ergebnisse mit denjenigen, die *Hári* an seinen übrigen Tieren erhielt, ging es auch hervor, daß die auffallende Abnahme des Energieumsatzes besonders an solchen Tieren in Erscheinung trat, die vorangehend einen relativ größeren Verlust an ihrem Eiweißbestand erlitten haben.

Bedenkt man, daß der Energieumsatz einer Ratte im Verhältnis zu ihrer Körpermasse weit reger ist als der eines Hundes, so ist von vornherein zu erwarten, daß die Ratte den protrahierten Hungerzustand weit schlechter, chronische Unterernährung aber auch schlechter verträgt. Da es demnach von vornherein ausgeschlossen war, für den Grundumsatz einer Ratte im Verlauf einer längeren Hungerperiode konstante Werte zu erhalten, habe ich versucht, ob es nicht möglich wäre, die Ratte abwechselnd an einem Tage ausreichend zu füttern, am nächsten hungern zu lassen, dann wieder zu füttern, wieder hungern zu lassen usw., und jedesmal an den dazwischen liegenden Hungertagen den Energieumsatz zu bestimmen. Ich tat dies in der Hoffnung, daß durch diese alternierende Fütterung es nicht zu einer chronischen Unterernährung des Tieres, daher auch nicht zu einer fortlaufenden Abnahme seines Energieumsatzes kommen würde.

Wie nachstehend gezeigt werden soll, konnte das erstrebte Ziel — während einer längeren Versuchsperiode konstante Werte für den auf die Einheit des Körpergewichts bzw. der Körperoberfläche reduzierten Energieumsatzes zu erhalten — auch auf diese Weise nicht erreicht werden.

Bezüglich der Methodik der Versuche sei auf die beiden vorangehenden Mitteilungen I und II der „Tierischen Kalorimetrie" verwiesen. Hier sei nur ganz kurz folgendes erwähnt. Als Versuchstier diente mir die Ratte B, an der auch zwei der in der Mitteilung II beschriebenen Versuchsreihen ausgeführt wurden. Nachdem das Tier eine Zeitlang mit Gerste gefüttert wurde, habe ich ihm die Nahrung entzogen und es dann nach 22 Stunden langem Hungern zum ersten kalorimetrischen Versuch verwendet; nach Abschluß desselben wieder einen ganzen Tag lang mit Gerste gefüttert usw. Die Versuche, die durchschnittlich 7 bis 9 Stunden lang dauerten, wurden bei etwa 27° C im elektrischen Kompensationskalorimeter ausgeführt, das an anderer Stelle[1]) ausführlich beschrieben und kurz auch in Mitteilung I der „Tierischen Kalorimetrie" skizziert ist. Neben der direkten Kalori-

---

[1]) *Paul Hári*, Elektrische Kompensationskalorimeter. Erscheint demnächst als Sonderkapitel in Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden.

Tabelle I. Allgemeine Versuchsdaten.

Nummer des Versuchs	Tier	Datum des Versuchs	Dauer des Versuchs	Mittlere Kalorimetertemperatur	Körpertemperatur		Gewicht des Tierbehälters + Tier einschl. Dejekte		Mittleres reines Körpergewicht	Während der Versuchsdauer				Der berechnete O_2 größer (+) od. klein (—), als der direkt bestimmte	Respiratorischer Quotient aus dem Mittelwert des berechneten und direkt bestimmten O_2	Vor Versuchsbeginn gehungert, bzw. injiziert erhalten
										in der Ventilationsluft abgeführt		O_2-Verbrauch berechnet b — a + c + d	O_2-Verbrauch direkt bestimmt			
					am Beginn des Versuchs	am Ende des Versuchs	am Beginn des Versuchs (a)	am Ende des Versuchs (b)		H_2O (c)	CO_2 (d)					
		1919		°C	°C	°C	g	g	g	g	g	g	g	Proz.		
1	B	29. IX.	7h15′	28,8	36,1	36,2	395,82	391,70	200,08	3,975	2,404	2,26	2,27	— 0,4	0,773	22 Stunden
2		1. X.	7 78	29,5	34,2	35,6	382,10	378,43	187,25	3,465	2,289	2,08	2,15	— 3,3	0,786	23 "
3		3. X.	8 55	28,1	31,7	34,4	373,47	370,67	178,20	2,677	2,169	2,05	1,96	+ 4,4	0,787	20¼ "
4		5. X.	9 10	28,8	35,1	36,3	362,78	359,60	165,15	2,873	2,332	2,02	2,05	— 1,5	0,833	22½ " 2 ccm Milch subkutan
5		7. X.	7 18	27,1	33,5	35,5	357,71	356,10	159,03	1,40	1,61	1,40	1,38	+ 1,4	0,843	23½ Stunden

metrie wurde auch die indirekte durchgeführt, und zwar durch Berechnung des Energieumsatzes aus dem O_2-Verbrauch und dem respiratorischen Quotienten. Da ich den Harn-N nicht bestimmt hatte, so mußte unter Vernachlässigung des verbrannten Eiweißes die Berechnung auf Grund der *Magnus-Levy*schen[1]) Tabelle erfolgen, deren Daten für den Fall einer 15proz. Beteiligung des Eiweißes am Energieumsatz gelten.

Die Ergebnisse meiner Versuche.

Die allgemeinen Daten meiner Versuche sind in Tabelle I, die Ergebnisse der direkten Kalorimetrie in Tabelle II, Daten und Berechnung der indirekten Kalorimetrie in Tabelle III enthalten. Bezüglich des O_2-Verbrauchs sei noch erwähnt, daß er einerseits direkt bestimmt, andererseits aus der Gewichtsveränderung des Tieres und seinen sämtlichen Ausgaben während der Versuchsdauer berechnet wurde.

O_2-Verbrauch. Wie aus den Daten der Tabelle I hervorgeht, stimmte der direkt bestimmte O_2-Verbrauch mit dem berechneten recht gut überein. Im Mittelwert aller Versuche beträgt die Differenz zwischen den nach den zwei Methoden erhaltenen Werten 0,1 Proz.

Der respiratorische Quotient. Da die Tiere vor jedem kalori-

[1]) *Adolf Magnus-Levy* in Noordens Handb. d. Pathol. des Stoffwechsels, 2. Aufl., S. 207, 1906.

Tabelle II. Direkte Kalorimetrie.

Nummer des Versuchs	Tier	Trockene Ventilationsluft auf Normalvolumen reduziert pro 24 Stunden	Mittlere Temperaturdifferenz zwischen aus- und eintretender Luft	In 24 Stunden Wärme abgegeben			Gesamte Wärmeabgabe (a)	Korrektion		Wärmeproduktion pro 24 Stunden (a + b + c)	Anmerkung
				an die Ventilationsluft	an das Kalorimeter	durch H_2O-Verdampfung		für das verringerte Körpergewicht pro 24 Stunden (b)	für die Änderung in der Körpertemperatur während der Versuchsdauer (c)		
		Liter	°C	g-Cal	g-Cal	g-Cal	g-Cal	g-Cal	g-Cal.	kg-Cal	
1	B	847	1,69	439	18 043	7758	26 240	— 96	— 148	26,00	
2	B	855	1,30	341	15 793	6216	22 350	— 78	+ 137	22,49	
3	B	828	1,37	348	13 889	4369	18 606	— 69	+ 395	18,93	
4	B	825	1,11	281	14 178	4406	18 865	— 96	+ 162	18,93	2 ccm Milch
5	B	877	0,98	264	12 334	2725	15 323	— 78	+ 288	15,53	

Tabelle III. Indirekte Kalorimetrie.

Nummer des Versuchs	Tier	O_2-Verbrauch pro 24 Stunden Mittelwert aus berechneten und direkt bestimmten Werten	Kalorischer Wert von 1 Liter O_2	Wärmeproduktion pro 24 Std. und 1 kg		Wärmeproduktion pro 24 Std. und 1 qm Körperoberfläche		Die aus dem O_2-Verbrauch berechnete Wärmeproduktion ergibt mehr (+) od. weniger (—) als direkte Kalorimetrie	Mittel aus direkter und indirekter Kalorimetrie	Anmerkung
				aus d. O_2-Verbrauch (Mittelwert der berechneten und direkt bestimmt. Werte)	direkt kalorimetrisch bestimmt	aus d. O_2-Verbrauch (Mittelwert der berechneten und direkt bestimmt. Werte)	direkt kalorimetrisch bestimmt			
		Liter	kg-Cal	kg-Cal	kg-Cal	kg-Cal	kg-Cal	Proz.		
1	B	5,31	4,736	125,7	129,9	808	835	— 3,3	822	
2	B	4,57	4,752	116,0	120,1	729	757	— 3,8	743	
3	B	3,94	4,753	105,1	106,5	650	658	— 1,2	654	
4	B	3,76	4,810	109,5	114,6	660	691	— 4,5	675	2 ccm Milch
5	B	3,25	4,822	98,6	97,7	587	581	+ 1,0	584	

metrischen Versuch etwa 22 Stunden lang hungerten, war bei ihrem regen Stoffwechsel ein Hungerquotient von etwa 0,70 bis 0,74 zu erwarten gewesen. Statt dessen fand ich in den Versuchen 1 bis 3 Werte von etwa 0,78, in Versuchen 4 und 5 gar solche von 0,84. Die um einige Prozente zu hohen Werte in den Versuchsreihen 1 bis 3 sind nicht von besonderem Belang und könnten allenfalls noch geringfügigen Versuchsfehlern zugeschrieben werden. Anders in den Versuchsreihen 4 und 5. Solch hohe Werte kommen einer über 20 Stunden lang hungernden Ratte nicht zu, wie dies auch aus den in diesem Institut ausgeführten zahlreichen Versuchen von *K. Goto*[1]) hervorgeht. So gab es an *Gotos* Ratten, die am Beginn des ersten Hungertages seit 15 Stunden nichts mehr gefressen haben, unter 56 Versuchen 44 solche, in denen der Quotient sich zwischen 0,71 und 0,75 bewegte, und 12 solche, in denen er sogar noch niedriger war. Allerdings bestand bloß die Hälfte dieser 56 Versuche aus solchen, die am sogenannten ersten Hungertage (15 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme) ausgeführt wurden, die andere Hälfte rührt vom zweiten Hungertage her. Was ist nun die Ursache meiner auffallend hohen Quotienten? Um einen Fehler in der Bestimmung des O_2-Verbrauchs kann es sich nicht handeln, da ja, wie oben gezeigt wurde, die direkt ermittelten und die berechneten Werte miteinander gut übereinstimmen. Aber auch die CO_2-Werte konnten nicht falsch sein, denn in diesem Falle hätte ja der aus den Ausgaben des Tieres berechnete O_2-Verbrauch ebenfalls falsch sein müssen bzw. hätte er mit dem direkt bestimmten nicht übereinstimmen können. Endlich war im Versuch 4 auch daran nicht zu denken, daß der Quotient durch das in der Milch eingeführte Kohlenhydrat erhöht wurde, da in 1 ccm Milch hoch gerechnet 0,1 g Milchzucker enthalten war.

Es bleibt also für die Erklärung des hohen respiratorischen Quotienten in den Versuchen 4 und 5 nichts anderes übrig, als daß das Tier infolge seiner zunehmenden Unterernährung zu dieser Zeit bereits einen sehr erheblichen Teil seines Fettvorrats eingebüßt hatte und, wie größere Tiere erst in späteren Stadien, zu seinem Eiweißvorrat greifen und dieses in weit erheblicheren Mengen als unter normaleren Bedingungen verbrennen mußte. Da jedoch auch bei alleiniger Verbrennung von Eiweiß der Quotient nicht weit über 0,8 zu stehen kommt, mußte da noch ein Moment im Spiele sein, das aber nicht zu eruieren war.

Der Energieumsatz. Das Körpergewicht des Tieres wies, wie aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich, trotz der an jedem zweiten Tage erfolgten ausgiebigen Fütterung eine rapide Abnahme auf: es hatte innerhalb 8 Tagen über 20 Proz. seines Anfangsgewichts

[1]) *K. Goto*, diese Zeitschr. 135, 113, 1923.

eingebüßt. Sein Energieumsatz sank aber, auch auf die Einheit der Körperoberfläche bezogen, noch rapider:

Datum	Körpergewicht g	Energieumsatz auf 1 qm Körperoberfläche reduziert kg-Cal
29. IX.	200	874
1. X.	187	776
3. X.	178	685
5. X.	165	699
7. X.	159	577

Das Tier hatte also im zweiten Versuch um 11 Proz. weniger Wärme als im ersten produziert, im dritten um 22 Proz. weniger. Im vierten Versuch erhielt das Tier 2 ccm Milch unter die Haut gespritzt, und zwar aus folgendem Grunde: Diese Versuchsreihe wurde als erste unter mehreren anderen Versuchsreihen eigentlich ausgeführt, um die Wirkung des künstlich erzeugten Fiebers auf den Energieumsatz zu prüfen; sie gab aber unübersichtliche Resultate, weil ich zu jener Zeit noch nicht gewußt habe, daß konstante Werte für den Energieumsatz der Ratte nicht nur am Hungertier, sondern auch unter den oben beschriebenen Ernährungsverhältnissen nicht zu erlangen sind. In den übrigen Versuchsreihen waren andere und betreffs Ernährungszustand der Tiere günstigere Bedingungen geschaffen, und sind diese Versuchsreihen als gelungen in der vorangehenden Mitteilung II beschrieben.

Um nun zu dem vierten Versuch unserer Versuchsreihe zurückzukehren, finden wir den Energieumsatz an diesem Tage im Vergleich zum vorangehenden unverändert, obwohl das Körpergewicht wieder geringer als vorangehend war. Es ist dies offenbar dem Umstande (auf den sofort noch zurückzukehren sein wird) zuzuschreiben, daß die Körpertemperatur des Tieres zwar trotz der injizierten Milch nicht höher war als die eines normalen Tieres, gegen den vorangehenden Versuch aber, in dem das Tier eine deutlich subnormale Temperatur aufwies, doch eine erhebliche Steigerung aufwies. Am nun folgenden letzten Versuch erfolgte ein um so stärkerer Abfall, indem das Tier nunmehr um 34 Proz. weniger Wärme als am ersten Versuchstage produziert hatte.

Es geht also aus diesen Versuchen hervor, daß, bereits von dem ersten Tage der Unterernährung beginnend, der auf 1 qm Körperoberfläche bezogene Energieumsatz der weißen Ratte gleichzeitig mit der Abnahme ihres Körpergewichts eine Abnahme aufweist, die wahrscheinlich rascher fortschreitet, jedenfalls aber viel früher beginnt als an größeren Tieren. Allerdings muß hierzu bemerkt werden, daß in

meiner soeben beschriebenen Versuchsreihe neben dem Körpergewicht auch die Körpertemperatur der Tiere eine, wenn auch unregelmäßige Tendenz zur Abnahme aufwies und dieser Umstand zur Abnahme des Energieumsatzes sicherlich beigetragen hat.

Weiterhin geht aus diesen Versuchen hervor, daß es durch von 24 zu 24 Stunden abwechselndes Füttern und Hungernlassen der Ratte nicht möglich ist, einen konstanten Wert für den Energieumsatz zu erhalten, daher auch die Festlegung des etwaigen Einflusses irgend eines Eingriffs auf den Energieumsatz nicht möglich ist.

Über Eisen,
den sauerstoffübertragenden Bestandteil des Atmungsferments.

Von

Otto Warburg.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 25. September 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Der Gedanke, daß Eisen bei den Oxydationsvorgängen in der Zelle eine Rolle spiele, ist in der Literatur der letzten 50 Jahre — mehr oder weniger bestimmt — oft aufgetaucht[1]). Da es aber nicht möglich war, ihn zu begründen und von den gleichzeitig geäußerten falschen Gedanken als richtig zu unterscheiden, versank er wieder und war für die Wissenschaft wertlos.

I.

Wir behaupten, daß in atmenden Zellen ein Kreislauf vorliegt von der Form der Abb. 1.

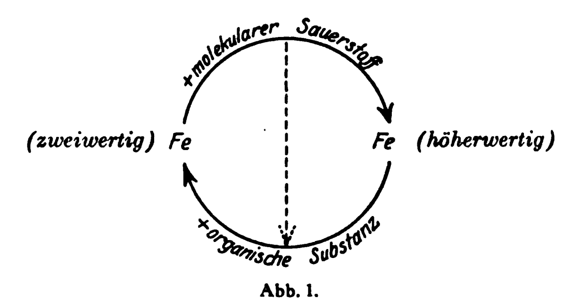


Abb. 1.

In diesem Kreislauf reagiert der molekulare Sauerstoff mit zweiwertigem Eisen, wobei eine höhere Oxydationsstufe des Eisens entsteht. Die höhere Oxydationsstufe reagiert mit der organischen Substanz unter Rückbildung zweiwertigen Eisens. Reaktionen in der Richtung des gestrichelten Pfeiles kommen nicht vor, niemals reagiert der molekulare Sauerstoff mit der organischen Substanz direkt.

---

[1]) Vgl. z. B. *Spitzer*, Die Bedeutung gewisser Nucleoproteide für die oxydative Leistung der Zelle. Pflügers Arch. **67**, 615, 1897.

Nach unserer Abbildung ist die organische Substanz in der Zelle ebensowenig autoxydabel[1]) wie außerhalb der Zelle, autoxydabel ist ausschließlich das Eisen, von dem wir wissen, daß es im Reagenzglas mit molekularem Sauerstoff reagieren kann.

Nicht jede Form zweiwertigen Eisens reagiert mit molekularem Sauerstoff und nicht jede Form höherwertigen Eisens reagiert mit organischen Substanzen. Damit Eisen katalytisch wirke, müssen gewisse Bedingungen hinsichtlich der Form, in der das Eisen vorliegt, erfüllt sein. Es wird unsere Aufgabe sein, zu zeigen, daß katalytisch wirksame Formen des Eisens in lebenden Zellen vorkommen und auf welche Weise katalytisch wirksame Formen des Eisens im Reagenzglas entstehen.

II.

Unsere Behauptung setzt voraus, daß jede lebende Zelle Eisen enthält und daß Leben ohne Eisen unmöglich ist.

Wer Zellen kultiviert hat, weiß, daß diese Voraussetzung zutrifft. Jede Nährlösung muß eisenhaltig sein und das Wachstum der Zellen hört auf, wenn das Eisen der Nährlösungen verbraucht ist. Obwohl schon vor 60 Jahren — von *Eusèbe Gris*[2]) — erkannt, blieb die Lebensnotwendigkeit des Eisens unerklärt und wurde noch dunkler, als sich zeigte, daß Eisen an dem Aufbau der in der Zelle vorkommenden organischen Moleküle nicht beteiligt ist. Die reinen Proteine, Nucleinsäuren, Chlorophylle sind eisenfrei.

Die Mengen an Eisen, die in der Zelle vorkommen, sind klein. Wir haben den Eisengehalt verschiedenartiger Zellen bestimmt und pro Gramm Zellsubstanz zehntel bis hundertstel Milligramme Eisen gefunden, in dem Seeigelei und gewissen eisenarmen Samen hundertstel Milligramme, in den Geweben höherer Tiere, nach Abzug des Hämineisens, zehntel Milligramme. Genügen diese kleinen Eisenmengen, um den Sauerstoff, der in der Atmung verschwindet, zu übertragen?

Zur Entscheidung dieser Frage bestimmen wir die Atmung von Zellen, deren Eisengehalt bekannt ist. Nehmen wir an, daß die Sauerstoffübertragung in der Atmung ausschließlich nach Abb. 1 erfolgt, so mißt offenbar der Quotient

$$\frac{\text{Sauerstoffverbrauch}}{\text{Eisengehalt} \times \text{Zeit}}$$

die Reaktionsfähigkeit des Eisens in der Zelle.

[1]) Autoxydation = Oxydation durch molekularen Sauerstoff. „Autoxydabel" ist eine Substanz, die direkt, ohne Vermittlung einer anderen Substanz, mit molekularem Sauerstoff reagiert.

[2]) *Eusèbe Gris*, C. r. 1844 bis 1847; vgl. auch *Molisch*, Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892.

Wählen wir als Einheiten das Kubikmillimeter Sauerstoff, das Milligramm Eisen und die Stunde, so wird dieser Quotient beispielsweise:

für das unbefruchtete Strongylocentrotusei[1]) bei 20° 7 000
für das befruchtete Strongylocentrotusei[1]) bei 20° 42 000
für die Retina der Säugetiere[2]), das Organ höherer Tiere, das nach unseren Messungen die größte Atmung besitzt, bei 37° . . . 100 000

Mit diesen Zahlen vergleichen wir die Reaktionsfähigkeit des Eisens im Reagenzglas. Als Beispiel betrachten wir die Oxydation des Cysteins zu Cystin, die durch Eisensalz beschleunigt wird, und messen, wieviel Sauerstoff 1 mg Eisen, einer wässerigen Cysteinlösung hinzugefügt, pro Stunde überträgt. Wir finden[3]) bei 20° 120000 cmm und bei 37° 400000 cmm, also größere Werte als für die Reaktionsfähigkeit des Eisens in der lebenden Zelle.

Diese Rechnung zeigt, daß der Eisengehalt der Zelle mehr als ausreicht, um den Sauerstoffverbrauch der Atmung im Sinne unserer Annahme zu erklären. Der Eisengehalt der Zelle ist zwar für den präparativen Chemiker klein, für uns aber, mit Hinblick auf die Reaktionsfähigkeit des Eisens, groß.

Bekanntlich enthält die lebende Zelle an autoxydablen Metallen nicht nur Eisen, sondern auch Kupfer, Mangan und andere Metalle, und man kann fragen, ob wir nicht besser täten, in unserem Schema statt „Eisen" „Schwermetall" zu schreiben. Wir tun das nicht, weil wir nicht wissen, ob Kupfer und Mangan lebensnotwendig sind und weil die Mengen dieser Metalle im Vergleich zu ihrer Reaktionsfähigkeit zu klein sind. So enthält 1 g Zellsubstanz nach *Bertrand* und *Medigreceanu*[4]) zehntausendstel Milligramme Mangan, der Mangangehalt ist also 100- bis 1000mal geringer als der Eisengehalt. Würde der Sauerstoff, der in der Atmung verschwindet, durch diese Manganmengen übertragen, so wäre die Reaktionsfähigkeit des Mangans in der Zelle, in unseren Einheiten ausgedrückt, 10 Millionen, und überstiege weit die Reaktionsfähigkeit des Mangans, die wir im Reagenzglas finden.

Wir beschränken unsere Annahme also ausdrücklich auf das Eisen und lehnen eine Erweiterung auf andere Schwermetalle als zurzeit nicht begründbar ab. Es mag Ausnahmen geben — man denke an

---

[1]) Das Strongylocentrotusei enthält auf 100 mg Stickstoff 0,025 mg Eisen (*O. Warburg*, Hoppe-Seyler **92**, 231, 1914). Das unbefruchtete Strongylocentrotusei verbraucht pro 20 mg Stickstoff bei 23° in 20 Minuten 12 cmm Sauerstoff, das befruchtete Strongylocentrotusei die sechsfache Menge Sauerstoff (*O. Warburg*, Arch. f. d. ges. Physiol. **160**, 324, 1915).

[2]) 1 mg Retina verbraucht pro Stunde bei 37° 30 cmm Sauerstoff. 1 g Retina enthält nach Messungen von Herrn *Muneo Yabusoe* 0,3 mg Eisen.

[3]) *S. Sakuma*, diese Zeitschr. **142**, 68, 1923.

[4]) C. r. **154**, 941, 1450; **155**, 82, 1912.

das Kupfer der Octopoden oder an *Henzes* Entdeckung, daß die Ascidien Vanadium enthalten —, aber derartige Fälle gehören nicht in eine allgemeine Theorie der Atmung.

III.

Nach unseren Annahmen muß jede Substanz, die mit Eisen reagiert, die Sauerstoffübertragung in der Zelle stören, vorausgesetzt, daß sie in die lebende Zelle eindringt und daß ihre Affinität zu Eisen ausreicht, um die natürlichen Bindungen des Eisens zu lösen. Substanzen, die mit Eisen reagieren, sind arsenige Säure, Schwefelwasserstoff, Blausäure, dieselben Substanzen hemmen, in die Zelle gebracht, die Atmung.

Am eingehendsten haben wir uns mit der Wirkung der Blausäure beschäftigt. Kleine Blausäurekonzentrationen wirken auf alle diejenigen Vorgänge, bei denen die Bindung und Übertragung von Sauerstoff eine Rolle spielt, die Kohlensäureassimilation[1]), die Nitratassimilation[2]), die Wasserstoffsuperoxydspaltung[3]) und die Atmung[4]). Diese Vorgänge werden bei Blausäurekonzentrationen von n/10000 bis n/100000 gehemmt, wobei sich zeigen läßt, daß die Zelle nur wenig Blausäure aus den Lösungen herausnimmt, Mengen, die im Vergleich zum Gewicht der Zellen verschwindend klein sind.

Da eine stöchiometrische Beziehung bestehen muß zwischen der gebundenen Blausäure und dem Stoff, der sie bindet, so folgt aus dem Gesagten, daß die Zelle eine sehr kleine Menge eines Stoffes enthält, der imstande ist, einerseits Sauerstoff zu übertragen, andererseits mit Blausäure zu reagieren. Von allen Stoffen, die in der Zelle vorkommen, erfüllt diese Bedingungen nur das Eisen. Es ist wahr, daß auch gewisse autoxydable Aldehyde sowohl mit Sauerstoff als auch mit Blausäure reagieren können, aber es ist nichts davon bekannt, daß derartige Aldehyde integrierende Bestandteile lebender Zellen sind.

IV.

Wir haben bisher eine Reihe von Argumenten zugunsten unserer Auffassung angeführt — die Lebensnotwendigkeit des Eisens, seine große Reaktionsfähigkeit, die spezifische Wirkung von Stoffen, die mit Eisen reagieren —, aber keine Versuche, die zwingend wären. Gibt es eine Möglichkeit, direkt zu zeigen, daß Eisen in der Zelle Sauerstoff überträgt?

---

[1]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **100**, 230, 1919; **108**, 188, 1920.
[2]) *O. Warburg* und *E. Negelein*, ebendaselbst **110**, 66, 1920.
[3]) *O. Warburg* und *T. Ujesugi*, ebendaselbst **146**, 486, 1924.
[4]) *O. Warburg*, Hoppe-Seyler **71**, 331, 1912.

Zentrifugiert man unbefruchtete Eier von Strongylocentrotus lividus zusammen und schüttelt, so zerfließen die Eier und man erhält eine Flüssigkeit, die atmet[1]), zunächst ebenso stark wie die intakten Eier, aus denen sie gewonnen wurde.

Die Flüssigkeit enthält Eisen, einige hundertstel Milligramme pro Gramm Zellsubstanz. Setzt[2]) man ihr Eisen in solchen Mengen zu, wie sie natürlicherweise in der Eisubstanz vorkommen, so steigt der Sauerstoffverbrauch, und zwar in dem Maße, als man den Eisengehalt vermehrt. Es zeigt sich also nicht nur, daß Eisen, der Zellsubstanz zugesetzt, Sauerstoff überträgt, sondern, was viel mehr besagt, daß der Sauerstoffverbrauch dem Eisengehalt der Zellsubstanz proportional ist.

Der wichtige Versuch sei näher beschrieben. Wir bestimmen zunächst die Atmung der intakten unbefruchteten Eier sowie ihren Gehalt an Eisen und berechnen die Reaktionsfähigkeit des Eisens, indem wir die Atmung durch den Eisengehalt dividieren. Dann zerstören wir die Eier, setzen zu 1 g Eisubstanz $^1/_{100}$ mg Eisen und bestimmen die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs, die infolge des Eisenzusatzes eintritt. Aus diesen Größen berechnen wir die Reaktionsfähigkeit des zugesetzten Eisens. In beiden Fällen finden wir für die Reaktionsfähigkeit des Eisens den Wert 7000, was besagt, daß jedes Milligramm Eisen, sei es das natürliche Eisen des intakten Eies, sei es der Eisubstanz zugesetzt, pro Stunde die gleiche Menge Sauerstoff, nämlich 7000 cmm, überträgt.

Diese Versuche, die ich vor 10 Jahren — zum Teil gemeinsam mit *Otto Meyerhof* — ausgeführt habe, beweisen, daß unsere Annahmen — zum mindesten für den Fall des Seeigeleies — zutreffen.

V.

Wir haben davon abgesehen, das, was wir für das Seeigelei gefunden, für andere Fälle zu verifizieren, uns vielmehr sofort die Aufgabe gestellt, dieselben Wirkungen des Eisens in einfachen Systemen, frei von dem Ballast der Zellsubstanz, hervorzubringen.

Die Versuche, zu denen wir hiermit übergehen, sind Modellversuche insofern, als die Bedingungen, unter denen wir arbeiten, einfacher sind als in der Zelle. Die Versuche sind mehr als Modellversuche, wenn es gelingt, den Sauerstoff mit Hilfe von Eisen auf die Brennstoffe der Zelle zu übertragen. Denn dann ist der Vorgang der Sauerstoffübertragung im Reagenzglas nicht nur nachgeahmt, sondern die Sauerstoffübertragung im Reagenzglas ist mit der Sauerstoffübertragung in

[1]) *O. Warburg*, Arch. f. d. ges. Physiol. **158**, 189, 1914.
[2]) *Derselbe*, Hoppe-Seyler **92**, 231, 1914.

der Zelle identisch, in beiden Fällen ist es der Valenzwechsel des Eisens, der ihr zugrunde liegt.

Es ist unerlaubt, in derartigen Modellversuchen den Sauerstoff in aktivierter Form, als Ozon, Wasserstoffsuperoxyd oder Chinon, zuzusetzen. In geeigneter Weise aktivierter Sauerstoff greift insbesondere in Gegenwart von Eisen — nach den Untersuchungen von *Fenton*[1]) an Kohlenhydraten, von *Neuberg*[2]) an Aminosäuren und Eiweiß sowie von *Dakin*[3]) an Fettsäuren — alle organischen Moleküle an, und was gezeigt werden soll, ist ja gerade, daß molekularer Sauerstoff durch Reaktion mit dem Eisen die Eigenschaften aktivierten Sauerstoffs gewinnt. Atmungsmodelle mit aktiviertem Sauerstoff als Oxydationsmittel entsprechen Invertasemodellen, in denen der Rohrzucker in konzentrierter Salzsäure gelöst ist.

Wir beschränken uns also streng auf den molekularen Sauerstoff und untersuchen zunächst, unter welchen Bedingungen die Reaktion zwischen zweiwertigem Eisen und molekularem Sauerstoff — die erste Phase unseres Kreislaufs — eintritt. Dabei zeigt sich, daß freie Ferroionen praktisch mit molekularem Sauerstoff nicht reagieren und ihn folglich auch nicht übertragen können. Schnell mit molekularem Sauerstoff reagieren gewisse gelöste komplexe Ferrosalze, wie Ferropyrophosphat und Ferrocitrat, sowie gewisse feste Eisenverbindungen, wie Ferrohydroxyd.

Fügt man aber zu Ferroverbindungen, die schnell mit Sauerstoff reagieren, Aminosäuren oder Zucker, so erfolgt im allgemeinen keine Übertragung von Sauerstoff. Die Absorption des Sauerstoffs in derartigen Gemischen ist beendigt, wenn das Eisen oxydiert ist. So leicht es ist, die erste Phase des Kreislaufs im Reagenzglas einzuleiten, so schwer ist es, die zweite Phase, die Reaktion zwischen höherwertigem Eisen und organischer Substanz, an sie anzuschließen.

Offenbar sind es nur ganz besondere und bisher unbekannte Bindungen des Eisens, die im Sinne unserer Annahmen katalytisch wirken können. Wie solche Bindungen entstehen und welche Wirkungen sie hervorbringen, soll nunmehr beschrieben werden.

VI.

Erhitzt man reines kristallisiertes Hämin[4]), eine Pyrroleisenverbindung, auf starke Rotglut, so bleibt eine schwarz gefärbte Substanz zurück, die nach Extraktion mit heißer Salzsäure neben Kohlenstoff

---

[1]) *H. J. Fenton*, Chem. News **65**, 889, 1895.

[2]) *C. Neuberg* und *F. Blumenthal*, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 238, 1902; diese Zeitschr. **13**, 305, 1908 und **20**, 531, 1909.

[3]) *H. D. Dakin*, Journ. biol. chem. 4, 77, 1908.

[4]) *O. Warburg* und *W. Brefeld*, diese Zeitschr. **145**, 461, 1924.

3 Proz. Stickstoff und ebensoviel Eisen enthält. Diese Kohle[1]) wirkt auf Aminosäuren als Oxydationskatalysator. Trägt man sie in wässerige Lösungen von Aminosäuren ein und schüttelt mit Luft oder Sauerstoff bei Körpertemperatur, so wird Sauerstoff absorbiert und auf die Aminosäuren übertragen. Aus Leucin entsteht hierbei Ammoniak, Kohlensäure und Valeraldehyd, aus Cystin Ammoniak, Kohlensäure und Schwefelsäure neben noch unbekannten Produkten unvollständiger Verbrennung[2]). Wir haben also eine Reaktion zwischen Aminosäuren und Sauerstoff vor uns, bei der, wie bei der Eiweißverbrennung in lebenden Zellen, Ammoniak, Kohlensäure und Schwefelsäure erscheinen.

Fragen wir, welcher Bestandteil der Häminkohle hierbei katalytisch wirksam ist, so tritt im Prinzip dieselbe Schwierigkeit auf wie bei Versuchen mit lebenden Zellen: gegeben ist ein Gemisch verschiedenartiger Substanzen, zu entscheiden ist, welcher Bestandteil des Gemisches die beobachtete Wirkung hervorbringt. Doch haben wir hier den großen Vorteil, daß wir das katalytisch wirksame Substanzgemisch künstlich herstellen können. Um unsere Frage zu entscheiden, haben wir nur nötig, verschiedenartige Stoffe zu glühen und die katalytische Wirksamkeit der entstehenden Kohlen mit ihrer chemischen Zusammensetzung zu vergleichen.

Derartige Versuche haben wir ausgeführt. Dabei zeigte sich, daß Kohlen von der katalytischen Wirksamkeit der Häminkohle immer dann entstehen, wenn zwei Bedingungen erfüllt sind: wenn das Ausgangsmaterial erstens nichtflüchtigen Stickstoff und zweitens Eisen enthält. Reinigt man geeignete stickstoffhaltige Substanzen sorgfältig, so daß sie nur noch wenig Eisen enthalten, und glüht sie, so entstehen schwach wirksame Kohlen. Tränkt man diese Kohlen mit Eisensalz und glüht sie, so werden sie aktiviert und erlangen die katalytische Wirksamkeit der Häminkohle. Je eisenreicher, um so wirksamer sind die stickstoffhaltigen Kohlen, bis bei einem Eisengehalt von einigen zehntel Milligrammen pro Gramm Kohle das Maximum der Wirkung erreicht ist.

Keine Aktivierung tritt ein, wenn man stickstoffhaltige Kohlen mit anderen Metallen oder stickstofffreie Kohlen mit Eisen glüht. Die katalytisch wirksame Substanz der Häminkohle ist also Eisen, aber

---

[1]) Häminkohle ist im wesentlichen der wirksame Bestandteil der käuflichen „Blutkohlen", die — da sie wenig Häminkohle enthalten — nur schwach wirksam sind.

[2]) *H. Wieland* und *F. Bergel* haben die Kohlefiltrate näher untersucht und haben erhalten: aus Glykokoll neben Kohlensäure und Ammoniak Formaldehyd und Ameisensäure, aus Alanin neben Kohlensäure und Ammoniak Acetaldehyd und Essigsäure, aus Asparaginsäure neben Kohlensäure und Ammoniak Acetaldehyd und Essigsäure. Vgl. Liebigs Annalen **439**, 196, 1924.

nicht Eisen in einer beliebigen Form, sondern Eisen, gebunden an Stickstoff.

Wir behaupten nicht, daß nur Eisen Sauerstoff auf Aminosäuren übertragen könne, vielmehr haben wir gefunden, daß auch Kohlen aus reinem eisenfreien Rohrzucker eine gewisse katalytische Wirksamkeit besitzen. Doch ist diese Wirkung — die die Wirkung eines Kohlenstoffperoxyds ist — in ihrer Stärke nicht vergleichbar mit den Wirkungen des an Stickstoff gebundenen Eisens. Die besten eisenfreien Kohlen, die wir erhalten haben, wirken 500mal[1]) schwächer als Häminkohle, so daß mindestens 99,8 Proz. der Wirkung der Häminkohle auf das Eisen der Häminkohle kommt.

VII.

Die katalytische Wirkung des an Stickstoff gebundenen Eisens wird, wie die Atmung der lebenden Zelle, durch Blausäure spezifisch gehemmt. n/10000 Blausäure setzt die Wirksamkeit der Häminkohle und aller übrigen Eisenstickstoffverbindungen, die wir geprüft haben, merklich herab. n/1000 Blausäure bringt die katalytische Wirksamkeit praktisch zum Verschwinden. Ich stehe nicht an, in diesem Ergebnis eine schlagende Bestätigung unserer Annahmen zu sehen.

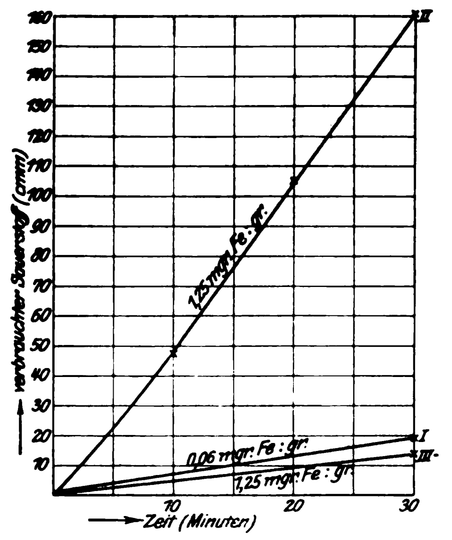


Abb. 2. Je 20 g Kohle + 10 ccm Lösung.
I: Kohle nicht aktiviert, in reiner n/20 Leucinlösung. II: Kohle, mit Eisen aktiviert, in reiner n/20 Leucinlösung. III: Kohle, mit Eisen aktiviert, in n/20 Leucin-, n/1000 Blausäurelösung.

Abb. 2 mag die wichtigen Versuche veranschaulichen. Die Abszissen bedeuten die Versuchszeiten, die Ordinaten die übertragenen Sauerstoffmengen. Die Aminosäure, auf die der Sauerstoff in unserem Beispiel übertragen wird, ist Leucin, die Kohlen, die den Sauerstoff übertragen, sind aus einem stickstoffreichen Anilinfarbstoff, dem Bismarckbraun hergestellt. Kurve 1 zeigt die Sauerstoffübertragung durch eine Kohle, die 0,06 mg Eisen pro Gramm enthält, Kurve 2 die Sauerstoffübertragung durch dieselbe Kohle, nachdem ihr Eisengehalt — durch Tränken mit Eisensalz und Glühen —

[1]) Berechnet auf die adsorbierte Substanzmenge.

auf 1,25 mg pro Gramm gebracht worden ist, Kurve 3 zeigt die Sauerstoffübertragung durch die eisenreiche Kohle nach Zusatz von $^1/_{1000}$ Molekül Blausäure zu 1 Liter Lösung. Wie man sieht, steigt die Wirksamkeit der Kohle, wenn ihr Eisengehalt steigt, und verschwindet die ganze Wirkung des Eisens unter dem Einfluß der Blausäure.

VIII.

Was die Reaktionsfähigkeit des Eisens in seiner Bindung an Stickstoff anbetrifft, so berechnen wir sie wie früher, indem wir die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs, die bei Zusatz von Eisen auftritt, durch die zugesetzte Eisenmenge dividieren. In dem durch die Abb. 1 wiedergegebenen Fall finden wir eine Reaktionsfähigkeit von 12000, das ist ungefähr die Reaktionsfähigkeit des Eisens in dem unbefruchteten Strongylocentrotusei. Die Reaktionsfähigkeit des Eisens in seiner Bindung an Stickstoff ist also von derselben Größenordnung wie die Reaktionsfähigkeit des Eisens in der lebenden Zelle.

Fassen wir das Ergebnis der Kohleversuche zusammen, so können wir — bei Körpertemperatur, bei neutraler Reaktion — mit Hilfe von Eisen molekularen Sauerstoff auf Aminosäuren übertragen, wobei Ammoniak, Kohlensäure und Schwefelsäure auftreten. Dieser Vorgang wird durch Blausäure, wie die Atmung der lebenden Zelle, spezifisch gehemmt.

IX.

Wenn zweiwertiges Eisen mit Sauerstoff, höherwertiges Eisen mit den Aminosäuren reagiert, so sind die treibenden Kräfte spezifische chemische Kräfte. Neben ihnen spielen bei der Sauerstoffübertragung durch Häminkohle die unspezifischen Oberflächenkräfte eine wichtige Rolle, indem sie die Aminosäuren aus der Lösung an das Eisen heranbringen. Substanzen[1]) von den verschiedensten chemischen Eigenschaften, wenn sie nur von der Kohle adsorbiert werden, sind imstande, die Aminosäuren von der Kohle zu verdrängen. Maßgebend für die verdrängende Wirkung einer Substanz ist die Kraft, mit der die feste Oberfläche sie anzieht und die der Adsorptionskonstanten proportional ist. Je größer die Adsorptionskonstante, um so größer ist die verdrängende Wirkung, was beweist, daß es die unspezifischen Oberflächenkräfte sind, die Aminosäure und Katalysator zusammenhalten.

Die Erfahrungen der physikalischen Chemie lehren, daß durch die Wirkung der unspezifischen Oberflächenkräfte chemische Vorgänge beschleunigt werden können. Porzellan, Quarz und andere feste Körper beschleunigen die Knallgasreaktion, Wasserstoff und Sauerstoff werden unter der Wirkung der Oberflächenkräfte reaktionsfähiger, und dasselbe müssen

[1]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **119**, 134, 1921.

wir in unserem Falle für die Aminosäuren annehmen, deren Gefüge, wie man sich vorstellen mag, durch die Oberflächenkräfte gelockert wird.

Doch genügt diese Auflockerung nicht, um eine Reaktion zwischen Aminosäuren und molekularem Sauerstoff herbeizuführen. Kohlen, die weder Eisen noch Kohlenstoffperoxyd enthalten, sind, auch wenn sie gut adsorbieren, katalytisch durchaus wirkungslos[1]). Eine Reaktion erfolgt nur dann, wenn zu den Oberflächenkräften chemische Kräfte hinzukommen.

So entsteht jenes eigentümliche Zusammenspiel unspezifischer Oberflächenkräfte und spezifischer chemischer Kräfte, wie es für die Häminkohle sowohl als auch für die lebende Substanz charakteristisch ist. Beide Systeme reagieren auf der einen Seite wie unspezifische Oberflächenkatalysen, auf der anderen Seite wie spezifische Metallkatalysen. Der spezifische Antikatalysator ist die Blausäure, die unspezifischen Antikatalysatoren sind die Narkotica.

X.

Faßt man den Begriff der Aktivierung weit genug, so ist das Eisen höherer Oxydationsstufen „aktivierter" Sauerstoff und sind die Atome der aufgelockerten organischen Moleküle „aktivierter" Kohlenstoff, Wasserstoff, Schwefel usw. Alle[2]) an dem Vorgang der Atmung beteiligten Moleküle sind also aktiviert, der Sauerstoff durch chemische Kräfte, die übrigen Moleküle durch unspezifische Oberflächenkräfte.

Dieses Ergebnis lehrt, daß die früheren Theorien der Atmung zum Teil richtig, zum Teil falsch waren. Die Theorien von *Moritz Traube* und *Bach* waren richtig, insofern sie eine Aktivierung des Sauerstoffs annahmen, unrichtig, insofern sie die Aktivierung der organischen Moleküle übersahen. Die Theorien von *Pfeffer*[3]) und *Wieland*[4]) waren richtig, insofern sie eine Aktivierung der organischen Moleküle annahmen, unrichtig, insofern sie die Aktivierung des Sauerstoffs übersahen.

Das Unbefriedigende aller früheren Atmungstheorien war ihre Unbestimmtheit. Daß ein Ferment die reagierenden Stoffe aktiviert, ist nur ein anderer Ausdruck für die Tatsache, daß es wirkt. Die Invertase aktiviert den Rohrzucker, die Zymase den Traubenzucker. Nicht *ob* ein Ferment aktiviert, sondern auf welche Weise es aktiviert, ist das zu lösende Problem. Begnügt man sich mit der Beantwortung der ersten Frage, so entsteht jener Circulus, der die Atmung durch die

---

[1]) *O. Warburg* und *W. Brefeld*, ebendaselbst **145**, 461, 1924.

[2]) *O. Warburg*, ebendaselbst **136**, 266, 1923.

[3]) *W. Pfeffer*, Beiträge zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge in lebenden Zellen. Abhandl. der mathem.-physischen Klasse der Sächs. Ges. d. Wiss. **15**, Nr. 5. Leipzig 1889.

[4]) *H. Wieland*, Oppenheimers Handb. d. Biochem., 2. Aufl., **2**, 252, 1923.

Aktivierung und die Aktivierung durch die aktivierenden Fermente erklärt.

XI.

Von dem großen Heer der organischen Stoffe greift das Eisen der Häminkohle nur eine eng begrenzte Zahl mit merklicher Geschwindigkeit an, von den Hauptbrennstoffen der Zelle weder Zucker, noch Fettsäuren, sondern nur Aminosäuren. Das Wahlvermögen der Häminkohle scheint also noch ausgeprägter zu sein als das Wahlvermögen der lebenden Zelle.

Andererseits ist die Verbrennung von Kohlehydrat und Fett in der lebenden Zelle ebenso eine Eisenkatalyse wie die Verbrennung der Aminosäuren. Denn auch die Verbrennung von Kohlehydrat und Fett in der lebenden Zelle wird durch Blausäure spezifisch gehemmt.

Der hier vorliegende Widerspruch verschwindet, wenn wir unseren bisherigen Annahmen die Hypothese hinzufügen, daß von den drei Hauptbrennstoffen nur die Aminosäuren direkt von Eisen angegriffen werden, während Kohlehydrate und Fette nicht als solche, sondern in Form noch unbekannter Derivate mit dem Eisen reagieren. Ist dies wahr, so haben wir nach Reaktionen zu suchen, die zwar keine Oxydationsvorgänge sind, sondern Spaltungen oder Kondensationen, insofern aber zu der Atmung gehören, als sie den Angriff des Eisens erst ermöglichen. Einen derartigen Vorgang[1]), der Zucker in eine reaktionsfähige Form überführt, haben wir gefunden und wollen ihn im folgenden näher beschreiben.

Löst man Fructose in neutralem Natriumphosphat und leitet durch die Lösung bei Körpertemperatur Sauerstoff, so zeigt sich, daß Sauerstoff verschwindet, um so schneller, je höher die Konzentration an Phosphat. Fructose, in anderen Salzen aufgelöst, absorbiert keinen Sauerstoff, andere Zucker, in Phosphat aufgelöst, absorbieren im Vergleich zur Fructose nur sehr wenig Sauerstoff. Es handelt sich also um eine spezifische Reaktion zwischen Fructose und Phosphat, bei der ein reaktionsfähiger Körper entsteht. Dieser Körper ist nicht die viel untersuchte Hexosephosphorsäure, die gegenüber Sauerstoff beständig ist.

Die Geschwindigkeit der Fructoseoxydation in Phosphat ist unter geeigneten Bedingungen groß. Pro Stunde können bis zu 0,3 Proz. der jeweils vorhandenen Fructose zerstört werden.

Als Endprodukt der Reaktion tritt Kohlensäure auf, und zwar pro Molekül verschwundenen Sauerstoffs $\frac{1}{3}$ Molekül Kohlensäure. Die Oxydation ist also nicht vollständig, wie in der lebenden Zelle, liefert aber doch in großen Mengen das physiologische Endprodukt der Kohlehydratverbrennung.

---

[1]) *O. Warburg* und *M. Yabusoe*, diese Zeitschr. **146**, 380, 1924.

Es ist merkwürdig, daß man diese einfache und wichtige Reaktion bisher übersah. Der Vorgang ist wichtig, weil wir hier eine partielle Verbrennung von Kohlehydrat im Reagenzglas vor uns haben unter dem Einfluß einer Substanz, die ein integrierender Bestandteil lebender Zellen ist.

Zunächst scheint es, daß dieser Fall unsere Behauptung widerlegt, nicht die organische Substanz, sondern nur das Eisen der Zelle sei autoxydabel. Denn wird hier nicht Zucker durch Vereinigung mit Phosphat so verändert, daß der molekulare Sauerstoff ihn angreift?

Dem ist nun nicht so, sondern auch hier ist der autoxydable Bestandteil des Systems, wie *Otto Meyerhof*[1]) gefunden hat, Metall. *Meyerhof* beobachtete folgendes: Setzt man zu der Lösung von Fructose in m/2 Phosphat $^1/_{1000}$ Mol Natriumpyrophosphat, so tritt eine starke Hemmung der Oxydation auf. Das gleiche geschieht, wenn man der schwach alkalischen Lösung $^1/_{10000}$ Mol Blausäure zusetzt. Beide Substanzen, Pyrophosphat und Blausäure, zeichnen sich dadurch aus, daß sie Metalle in feste komplexe Bindungen überführen, beide Wirkungen werden verständlich, wenn wir annehmen, daß die Fructoseoxydation in Phosphat eine Wirkung von Metallen ist, die sich in kleinen Mengen immer in den Laboratoriumsreagenzien finden.

In der Tat wirken kleine Mengen von Kupfer, Mangan und Eisen, die man dem Fructosephosphatgemisch zusetzt, stark beschleunigend auf die Oxydation. Die stärksten Wirkungen der Metalle erhält *Meyerhof* in schwach alkalischen Lösungen und findet beispielsweise, daß $^1/_{100}$ mg Kupfer, zu 100 mg Fructose hinzugefügt, die Oxydation um 140 Proz., $^1/_{100}$ mg Eisen die Oxydation um 70 Proz. beschleunigt.

Natürlich hängt der Grad der Beschleunigung von der Reinheit des Fructosephosphatgemisches ab und wäre wohl unendlich groß, wenn wir ganz metallfreie Lösungen zur Verfügung hätten. Unter solchen Umständen ist es sachgemäßer, von der Oxydation, die man vor Zusatz des Metalles findet, ganz abzusehen und nur den Zuwachs der Sauerstoffabsorption ins Auge zu fassen, die bei Zusatz des Metalles eintritt. Tun wir das und reduzieren den Zuwachs des Sauerstoffverbrauchs auf die Stunde und das Milligramm zugesetzten Metalls, so erhalten wir die Reaktionsfähigkeit des Metalles in dem System Fructose-Phosphat. Wir berechnen aus einem von *Meyerhof* angeführten Beispiel für Kupfer 20000, für Eisen 10000, das ist die Größenordnung der Reaktionsfähigkeit des Eisens, die wir für die lebende Zelle finden.

Fassen wir zusammen, so bildet sich aus anorganischem Phosphat und Fructose, wenn sie in wässeriger Lösung zusammentreffen, eine

[1]) *O. Meyerhof*, diese Zeitschr. **150**, 1, 1924.

Substanz, die Eisen zu einer katalytisch wirksamen Form bindet. Eisen in dieser Form reagiert schnell mit molekularem Sauerstoff, die entstehende höhere Oxydationsstufe des Eisens schnell mit der organischen Substanz unter Rückbildung zweiwertigen Eisens. Dies ist der Kreislauf unseres Schemas, der hier Kohlehydrat partiell zu Kohlensäure verbrennt und wie die Kohlehydratverbrennung in der lebenden Zelle durch Blausäure spezifisch gehemmt wird.

Die große Bedeutung des Systems Fructose—Phosphat—Eisen liegt darin, daß es ausschließlich aus Substanzen aufgebaut ist, die in der Zelle vorkommen, und daß hier, wie wir annehmen müssen, eine der physiologisch wirksamen Bindungen des Eisens vorliegt. In dieser Beziehung ist das System ein besseres Modell als das Kohlemodell, in dem die Bindung des Eisens unphysiologisch ist. Auf der anderen Seite fehlen in dem Fructosesystem die Oberflächen, was bedingt, daß die Konzentrationen unphysiologisch hoch sind und daß es nicht narkotisierbar ist.

XII.

Das Problem, Fette im Reagenzglas durch Eisen anzugreifen, harrt im wesentlichen noch seiner Lösung. Doch ist das wenige, was erreicht ist, von Interesse, weil hier eine in der Zelle vorkommende Bindung des Eisens — die Bindung an die Sulfhydrylgruppe — eine Rolle spielt.

Thunberg fand[1]), daß Eisensalze die Oxydation wässeriger Lecithinsuspensionen durch molekularen Sauerstoff beschleunigen. Wir haben uns näher mit dem Vorgang beschäftigt und festgestellt[2]), daß Eisensalze in gleicher Weise auf Linolensäure wirken, weiterhin, daß bei dem Vorgang die Doppelbindungen der Linolensäure angegriffen werden, und daß die Sauerstoffaufnahme aufhört, wenn von den drei Doppelbindungen der Linolensäure zwei verschwunden sind. Die Wirkung des Eisens ist also nicht tiefgreifend, nicht vergleichbar mit der Wirkung des Eisens auf die Aminosäuren oder die Fructose in unseren Modellen, immerhin aber liegt ein System vor, das ausschließlich aus Stoffen, die in der Zelle vorkommen, aufgebaut ist.

Meyerhof[3]) fand, daß man in dem System Linolensäure—Eisen das Eisen durch die Sulfhydrylgruppe ersetzen kann. *Hopkins*[4]) zeigte das gleiche für die Sulfhydrylgruppe des Glutathions, des Cysteindipeptids, das nach seiner bekannten Entdeckung ein weit verbreiteter Bestandteil lebender Zellen ist. So schien es, daß die Sulfhydrylgruppe

[1]) *T. Thunberg*, Skand. Arch. f. Physiol. **24**, 90, 1910.

[2]) *O. Warburg*, Hoppe-Seyler **92**, 231, 1914.

[3]) *O. Meyerhof*, Arch. f. d. ges. Physiol. **199**, 531, 1923.

[4]) *F. G. Hopkins*, Lancet, Juli 1923; zit. nach *O. Meyerhof*, Chemical Dynamics of Life Phaenomena. Philadelphia und London, 1924.

ebenso wie das Eisen molekularen Sauerstoff aufnehmen und übertragen könne, was unserer Behauptung widerspricht, Eisen sei der einzige autoxydable Bestandteil der Zelle.

Der Widerspruch zu unseren Annahmen wird noch größer, wenn wir hinzufügen, daß nach *Mathews* und *Walker*[1]) die Autoxydation des Cysteins durch Blausäure gehemmt wird. Setzten *Mathews* und *Walker* zu einer neutralen Cysteinlösung Blausäure, so hörte die Sauerstoffabsorption auf. Hiernach schien es, daß die Sulfhydrylgruppe nicht nur, wie das Eisen, Sauerstoff übertrage, sondern auch, wie das Eisen, durch Blausäure inaktiviert werde, was unserer Behauptung widerspricht, Blausäure wirke auf die Absorption des Sauerstoffs allein dadurch, daß sie das Eisen binde.

Betrachten wir die Versuche von *Mathews* und *Walker* näher, so stoßen wir auf eine Schwierigkeit. Wenn Blausäure die Sulfhydrylgruppe inaktiviert, so muß sie sich mit ihr verbinden. Dann aber muß die Blausäuremenge zu der Cysteinmenge, die sie inaktiviert, in einem stöchiometrischen Verhältnis stehen und ihr der Größenordnung nach gleich sein. Indessen lehren die Versuche von *Mathews* und *Walker*, daß 1 Molekül Blausäure 1000 Moleküle Cystein und mehr inaktivieren kann.

Da dies in Widerspruch zu den Gesetzen der Chemie steht, so haben wir angenommen, daß die sogenannte Autoxydation des Cysteins in Wirklichkeit gar keine Autoxydation sei, sondern vorgetäuscht durch katalytisch wirkende Metallspuren, die nach der Arbeitsweise von *Mathews* und *Walker* immer als Verunreinigungen in ihren Lösungen zugegen sein mußten.

Um unsere Annahme zu prüfen[2]), haben wir ein Reinigungsverfahren für Cystein ausgearbeitet, haben unsere Versuche nicht in Glas-, sondern in Quarzgefäßen ausgeführt und haben — was wohl der springende Punkt war — auch das zur Neutralisation des Cystein-Chlorhydrats erforderliche Alkali durch Destillation in Quarzgefäßen hergestellt. Dabei zeigte sich, daß die Sauerstoffabsorption der Cysteinlösungen mit zunehmendem Reinheitsgrad der Lösungen kleiner und kleiner wurde. Während das reinste Präparat von *Mathews* und *Walker* beim Schütteln mit Luft nach wenigen Stunden zur Hälfte oxydiert war, erforderte die Oxydation der halben Cysteinmenge in unseren besten Versuchen — unter sonst gleichen Bedingungen — 14 Tage. Setzten wir zu diesen reinen Präparaten Eisen hinzu, so entstanden die Präparate mit den von *Mathews* und *Walker* beschriebenen Eigenschaften.

---

[1]) *Mathews* und *Walker*, Journ. of biol. Chem. **6**, 21, 29, 1906.

[2]) *O. Warburg* und *S. Sakuma*, Arch. f. d. ges. Physiol. **200**, 203, 1923. *S. Sakuma*, diese Zeitschr. **142**, 68, 1923.

Was hier die Erkenntnis des wahren Sachverhalts solange aufhielt, war der Umstand, daß man mit Eisenmengen, wie sie bei der Cysteinkatalyse wirksam sind, nicht zu rechnen pflegte. Einige $^{1}/_{100000}$ mg Eisen, zu 10 ccm einer Cysteinlösung zugesetzt, erzeugen schon große und gut meßbare Sauerstoffabsorptionen, während es kaum möglich ist, Eisen in derartigen Verdünnungen mit den gebräuchlichen Eisenreagenzien nachzuweisen. Man übersah den Eisengehalt der Cysteinlösungen, weil die Cysteinkatalyse ein feineres Reagenz auf Eisen ist als die Eisenreagenzien der analytischen Chemie[1]).

Fassen wir zusammen, so reagiert metallfreies Cystein nicht mit molekularem Sauerstoff und kann ihn infolgedessen auch nicht übertragen. In metallhaltigen Lösungen ist es das Metall, das den Sauerstoff überträgt, und diese Übertragung wird durch Blausäure, wie die übrigen Metallkatalysen, gehemmt. Zunächst scheinbar in unvereinbarem Gegensatz zu unseren Anschauungen, ist dieser Fall bei näherer Untersuchung ein besonders einfaches und schlagendes Argument für die Wahrheit unserer Theorie geworden.

Unsere Versuche besagen nicht, daß die Sulfhydrylgruppe für die Atmung bedeutungslos ist, vielmehr lehren sie gerade, worin ihre Bedeutung besteht. Durch die Bindung an die Sulfhydrylgruppe gewinnt das Eisen eine besonders große Reaktionsfähigkeit. Eisen, an die Sulfhydrylgruppe des Cysteins gebunden, reagiert zehnmal schneller als das Eisen in den stickstoffhaltigen Kohlen oder das Eisen in dem Fructose-Phosphatgemisch. Daß die Wirkungen, die man bisher mit Eisen in dieser Form erzielt hat, unbedeutend sind, spricht nicht dagegen, daß sie in anderen noch unbekannten Fällen und in der Zelle selbst tiefgreifender sein können.

XIII.

Überblicken wir die drei besprochenen Modelle: Häminkohle—Aminosäuren, Fructose—Phosphat und Cystein—Linolensäure und vergleichen die Wirkungen des Eisens, so erkennen wir, daß die Bindung des Eisens von entscheidendem Einfluß auf seine Wirkung ist.

Das an den Stickstoff der Kohle gebundene Eisen greift weder Zucker noch Fettsäuren, sondern nur Aminosäuren an. Das an Fructose-Phosphat gebundene Eisen greift weder Aminosäuren noch Fettsäuren, sondern nur Zucker an, und von diesen mit merklicher Geschwindigkeit nur die Fructose, so daß es leicht wäre, mit Hilfe dieses künstlichen Systems Fructose und Galaktose ebenso weitgehend zu trennen, wie

[1]) Bei Reagenzglasversuchen spielt neben Eisen oft Mangan, das aus den Gläsern stammt, und Kupfer, das in dem käuflichen destillierten Wasser vorkommt, eine Rolle.

mit Hilfe gärender Hefezellen. Eisen, an die Sulfhydrylgruppe gebunden, greift weder Aminosäuren noch Zucker an, sondern nur Fettsäuren, und von diesen nur ungesättigte.

Diese Gegenüberstellung lehrt, worauf die spezifische Wirkung der Atmung beruht. Zwar ist es immer dasselbe Atom, das den Sauerstoff aufnimmt und weitergibt und immer derselbe Vorgang — der Valenzwechsel —, der der Oxydation zugrunde liegt, aber *ob* dieser Wechsel erfolgt und *wie schnell* er erfolgt, hängt von der Bindung des Eisens ab. Damit ist die spezifische Wirkung so weit erklärt, als es bei dem heutigen Stande der physikalischen Chemie möglich ist. Warum das Eisen in der einen Bindung schnell reagiert, in der anderen langsam, können wir ebensowenig erklären, wie die Geschwindigkeit irgend eines chemischen Vorganges. Der Mechanismus der chemischen Vorgänge ist unbekannt.

XIV.

Fragen wir uns zum Schluß, was das Atmungsferment ist, so hängt die Antwort offenbar davon ab, wieweit wir den Begriff der Atmung fassen. Beschränken wir ihn auf den Vorgang der Oxydation, so ist das Atmungsferment die Summe aller katalytisch wirksamen Eisenverbindungen, die in der Zelle vorkommen. Rechnen wir der Atmung Vorgänge hinzu, in denen, wie in der Reaktion zwischen Fructose und Phosphat, besondere Affinitäten zum Eisen erst entstehen, so ist auch die Phosphorsäure ein Bestandteil des Atmungsferments und mit ihr alle Stoffe, die durch Spaltungen oder Kondensationen Bindungsmöglichkeiten für das Eisen schaffen. Ob wir nun den Begriff der Atmung eng oder weit fassen, immer wird das Eisen als der sauerstoffübertragende Bestandteil des Atmungsferments seine zentrale Stellung behalten, denn die Oxydation ist derjenige Vorgang, durch den sich die Atmung von anderen Fermentreaktionen unterscheidet und in der sich der Sinn der Atmung, die Gewinnung von Energie, erfüllt.

Die Farbstoffe der Potamogetonblätter.

Von

Silvestr Prát.

(Pflanzenphysiologisches Institut der tschechischen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 29. September 1924.)

Die Blätter von verschiedenen Potamogetonarten enthalten, namentlich in jungem Zustande, rotbraune Chromoplasten, in denen in lichtbraunem Stroma dunkelpurpurrote Tröpfchen eingelagert sind. Später verwandeln sich diese Chromoplasten in normal grüne Chloroplasten. Ausgedehnte Untersuchungen über die Chromoplasten in vegetativen Organen liegen von *Rothert* vor[1]). Weitere Angaben über die Potamogetonchromoplasten erscheinen in meiner Arbeit in Preslia[2]) nebst einer Reihe von Angaben über mikrochemische Reaktionen. Hier möge nur angeführt werden, daß nach der Einwirkung von Chloralhydrat und Glycerin oder Lactophenol (und Glycerin) man den roten Farbstoff der Chromoplasten in den Blättern zur Ausscheidung in Kristallen bringen kann. In der alkoholischen Kalilauge von *Molisch*, in der Carotin gut kristallisiert, fallen auch rötlich gefärbte Kristalle neben den gelben aus, aber bleiben auch rot gefärbte kleinere oder größere Tröpfchen.

N. Monteverde und *V. N. Lubimenko* haben von den Potamogetonblättern einen roten Farbstoff — Potamorhodin — isoliert und durch fraktionierte Kristallisation vom Xanthophyll getrennt[3]). Diese Arbeit wird von *Czapek* nur in Nachträgen kurz erwähnt[4]). Da auch in den

---

[1]) *W. Rothert*, O chromoplastech w organech vegetatywnych, Bull. internat. de l'Acad. d. Scienc. de Cracovie, Cl. d. Sc. Mathemat. et Natur., Série B, Sc. natur, 1912, Cracovie 1913, und Nowe badania nad chromoplastami, ibidem année 1914, Cracovie 1915, S. 1.

[2]) Reports of the Czechoslovak Botanical Society of Pragne, III.

[3]) Chlorophyll v rostlinách, IV, O rhodoxanthinu a lykopinu. Bull. de l'Acad. impér. des Scienc. de St. Pétersbourg, VI. Sér., 7, II, 1105, 1913 (russisch).

[4]) Biochemie 3, 782, 799, 1921.

neuen Zusammenstellungen von *R. Willstätter*[1]) und von *P. N. Schürhoff*[2]) dieser Farbstoff nicht angeführt wird, möchte ich hier kurz meine Untersuchungen, die die Arbeit von *Monteverde* und *Lubimenko* ergänzen, anführen.

Ich konnte nach der quantitativen Methode von *Willstätter* und *Stoll*[3]) von den braunen Blättern von Potamogeton natans und P. crispus Phytochlorin und Phytorhodin gewinnen, was die normale Anwesenheit beider Chlorophyllkomponenten — a und b — beweist. Die Xanthophyll- oder bei der modifizierten Methode die Fucoxanthinfraktion enthielt den roten Farbstoff Rhodoxanthin, der sich von dem ähnlichen Fucoxanthin dadurch unterscheidet, daß er mit verdünnten Säuren nicht reagiert. Der isolierte Farbstoff ist sehr lichtunecht und entfärbt sich nicht nur im Lichte, sondern auch im Dunkeln, in der Lösung sowohl als auch an Filtrierpapier absorbiert, sehr schnell. Auch von den getrockneten, im Dunkeln aufbewahrten Blättern wurden nach längerer Zeit durch Aceton oder Methylalkohol nur grüne oder olivgrüne Auszüge statt braune oder dunkelrote gewonnen. Von den getrockneten, im diffusen Lichte aufbewahrten Blättern konnte schon nach einigen Tagen kein roter Farbstoff mehr extrahiert werden.

Die von *Monteverde* und *Lubimenko* tabellarisch zusammengestellten Löslichkeitsverhältnisse konnte ich bestätigen.

	Xanthophyll		Rhodoxanthin	
	Löslichkeit	Farbe	Löslichkeit	Farbe
Methylalkohol	—	—	—	—
Äthylalkohol	schwer	gelb	schwer	rosarot
Petroläther	„	„	sehr schwer	gelb
Benzin	„	„	„	„
Äther	leicht	„	leicht	„
Schwefelkohlenstoff	„	orange	sehr leicht	violettrubin
Aceton	„	gelb	leicht	rot
Essigsäure	„	„	„	„
Schwefelsäure	„	vorübergehend blau	„	vorübergehend blau
Salpetersäure	„		„	

In grünen sowohl wie in den braunen Blättern von Potamogeton waren reduzierende Zucker vorhanden. Wenn die Blätter sofort nach dem Sammeln in 96proz. Alkohol eingelegt wurden und mit heißem 50proz. Alkohol extrahiert wurden, wurden etwa 30 Proz. des Trockengewichtes aus vereinigten Alkoholextrakten gewonnen. Nach Aus-

[1]) *R. Willstätter*, Die Blattfarbstoffe, Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmeth. **1**, 11, 1924.

[2]) *P. N. Schürhoff*, Die Plastiden, Linsbauers Handb. d. Pflanzenanatom. 1, 1924.

[3]) *Willstätter* und *Stoll*, Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin 1913.

kochen der rotbraunen oder grünen Masse mit Wasser wurde die Trübung mit Bleiacetat abzentrifugiert und nach der Methode von *Schoorl-Regenbogen*[1]) in den braunen Blättern 3,6 Proz., in den grünen 5,9 Proz. Zucker, auf die Trockensubstanz der Blätter und Glucose umgerechnet, bestimmt. Wenn die getrockneten Blätter mit Wasser ausgekocht wurden, das Filtrat mit Bleiacetat und Natriumsulfat gefällt wurde, konnten in braunen Blättern 4,0 Proz., in grünen 8,7 Proz. Glucose in der Trockensubstanz bestimmt werden.

Wenn die Blätter von Potamogeton natans untergetaucht gehalten wurden, blieben sie viel länger braun, wenn sie in feuchte Luft übertragen wurden, ergrünten sie schneller als normal schwimmende Blätter. Die Abhängigkeit vom Wassermilieu ist also evident. Bei P. lucens wurde aber umgekehrt beobachtet, daß die in die Luft hinausragenden jungen Blätter braune Chromoplasten bildeten.

Es ist wahrscheinlich, daß auch der in den rot werdenden Chromatophoren von Aloe entstehende Farbstoff in die Gruppe der Xanthine gehört[2]). In den unteren Internodienpartien von Equisetum limosum, die von der Blattscheide umgeben sind und in den unteren untergetauchten Teilen, die fleisch- bis violettrot gefärbt sind, findet sich auch ein ähnlicher Farbstoff. Die braune Färbung von Neottiachromoplasten wird dagegen durch einen anderen Farbstoff bedingt[3]), was auch schon danach leicht festgestellt werden kann, daß sie im Gegensatz zu den Potamogetonblättern durch verschiedene Reagenzien (*Molisch*) schnell grün werden.

---

[1]) *Schoorl-Regenbogen*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **56**, 1917.

[2]) *H. Molisch*, Über vorübergehende Rotfärbung der Chlorophyllkörner in Laubblättern, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **20**, 1902.

[3]) Vgl. auch *Schürhoff*, l. c., S. 166—167.

Über den Temperaturkoeffizienten der Kohlensäureassimilation.

II. Mitteilung: Über die Blackmansche Reaktion[1].

Von

Muneo Yabusoe.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem).

(Eingegangen am 2. Oktober 1924.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Wie *Blackman*[2]) fand, wird die photochemische Kohlensäurespaltung in grünen Zellen durch die Temperatur nicht beeinflußt. Schwach bestrahlte grüne Zellen zersetzen pro Kalorie absorbierter Strahlung bei verschiedenen Temperaturen gleiche Kohlensäuremengen.

Andererseits zeigte *Blackman*[2]), daß die Kohlensäureassimilation beim Übergang von schwacher zu intensiver Bestrahlung temperaturempfindlich wird. Dieses merkwürdige Verhalten rührt daher[2])[3]), daß je nach der Intensität der Bestrahlung verschiedene Vorgänge die Geschwindigkeit der Kohlensäurezersetzung bestimmen. Bei intensiver Bestrahlung ist der limitierende Vorgang nicht die Lichtreaktion, sondern eine Dunkelreaktion, die *Blackman*sche Reaktion, und diese letztere ist temperaturempfindlich. Spricht man von dem Temperaturkoeffizienten der Kohlensäureassimilation, so meint man also immer den Temperaturkoeffizienten der *Blackman*schen Reaktion.

I.

Ich habe auf Veranlassung von Herrn *Warburg* den Einfluß der Temperatur auf die *Blackman*sche Reaktion näher untersucht. Als Versuchsmaterial benutzte ich Chlorellen, die in *Knop*scher Lösung suspendiert waren. Die Suspensionen wurden mit einem Gasgemisch von 5 Vol.-Proz. Kohlensäure, 2 Vol.-Proz. Sauerstoff und 93 Vol.-Proz. Stickstoff gesättigt und in dünnen Schichten so stark bestrahlt, daß

---

[1]) Erste Mitteilung: *O. Warburg* und *T. Ujesugi*, diese Zeitschrift **146**, 486, 1924.

[2]) *Blackman*, Ann. of Botany **19**, 281, 1905.

[3]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **100**, 230, 1919; **103**, 188, 1920.

eine Vermehrung der Lichtintensität keine Beschleunigung der Assimilation bewirkte. Die bei der Bestrahlung im Assimilationstrog auftretenden Druckänderungen wurden gemessen und aus ihnen in bekannter[1]) Weise die zersetzten Kohlensäuremengen berechnet.

Die pro Versuch verwendeten Zellmengen waren 100 cmm frischer Zellsubstanz = 20 mg Trockensubstanz. Das Volumen der *Knop*schen Lösung war 8 ccm, das Volumen des Gasraumes 10 ccm. 1 mm Druckänderung zeigte, je nach der Temperatur, die Zersetzung von 2 bis 3 cmm Kohlensäure an. In bezug auf die Formeln, nach denen ich gerechnet habe, und sonstige Einzelheiten verweise ich auf frühere Arbeiten aus diesem Institut.

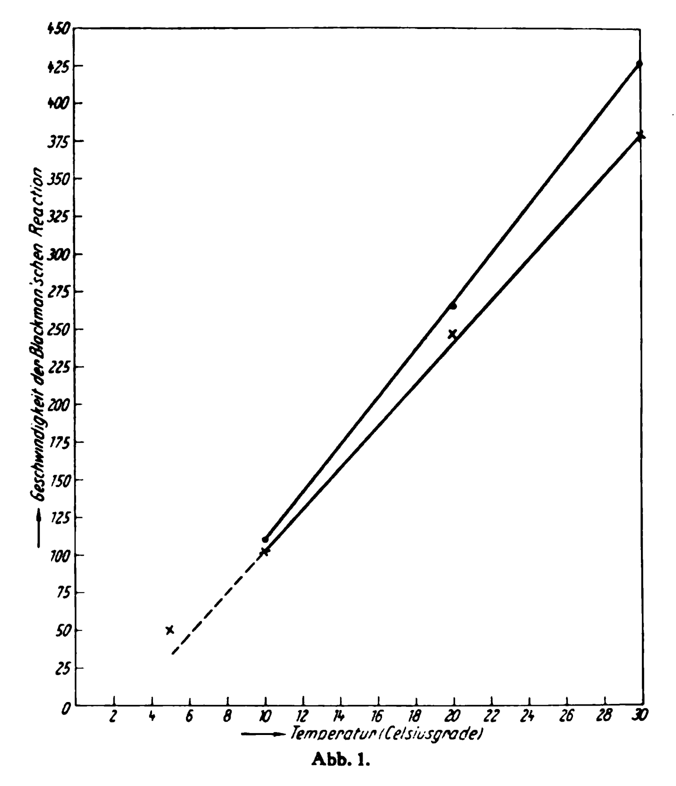


Abb. 1.

Das Ergebnis meiner Messungen ist, daß die Geschwindigkeit der *Blackman*schen Reaktion zwischen 10 und 30° eine lineare Funktion der Temperatur ist[1]). Bei tieferen Temperaturen treten Abweichungen

[1]) In der Arbeit von *O. Warburg*, diese Zeitschr. **100**, 230, 1919, findet man einige Messungen des Temperaturkoeffizienten der *Blackman*schen Reaktion. Stellt man die Messungen graphisch dar, so erhält man auch dort eine gerade Linie.

von dieser einfachen Beziehung auf, und zwar ist die Geschwindigkeit bei tiefen Temperaturen größer, als sie bei linearem Verlauf der Kurve wäre (vgl. Tabelle I und Abb. 1).

Tabelle I. *Blackman*sche Reaktion.

Temperatur °C	Versuch 1 2 mg Zellsubstanz. Pro Stunde entwickelter Sauerstoff cmm	Versuch 2 2 mg Zellsubstanz. Pro Stunde entwickelter Sauerstoff cmm
5	50	—
10	101	110
20	248	266
30	380	430

Der Einfluß der Temperatur auf die Kohlensäureassimilation ist also ein durchaus anderer als der Einfluß der Temperatur auf chemische Reaktionen im homogenen System. Bezeichnen wir die Geschwindigkeitskonstante mit k, die Temperatur mit ϑ, so findet man in homogenen Systemen, daß $\frac{dk}{d\vartheta}$ sehr stark mit der Temperatur wächst und daß oft, worauf *van 't Hoff* aufmerksam gemacht hat, $\frac{dk}{d\vartheta}$ proportional k ist. In homogenen Systemen ist also vielfach $\frac{\frac{dk}{d\vartheta}}{k}$ konstant, in unserem Falle dagegen ist $\frac{dk}{d\vartheta}$ konstant.

Bekanntlich versteht *van 't Hoff*[1]) unter dem „Geschwindigkeitsquotienten" nicht den Differentialquotienten der Geschwindigkeit nach der Temperatur, sondern das Verhältnis der Geschwindigkeiten für ein gegebenes Temperaturintervall. Ist nun $\frac{\frac{dk}{d\vartheta}}{k}$ konstant, so ist es auch der Geschwindigkeitsquotient, ist aber $\frac{dk}{d\vartheta}$ konstant, so nimmt der Geschwindigkeitsquotient mit steigender Temperatur ab und besitzt *jeden* Wert zwischen ∞ und 1.

Schon vor vielen Jahren haben *O. Warburg*[2]) und *A. Krogh*[3]) darauf hingewiesen, daß die *van 't Hoff*sche und die ihr ähnliche *Arrhenius*sche Beziehung, die für homogene chemische Systeme gilt,

[1]) Der *van 't Hoff*sche Geschwindigkeitsquotient für 10° ist das, was in der Biologie unzuverlässigerweise als Temperaturkoeffizient bezeichnet wird.

[2]) *O. Warburg*, Ergebn. d. Physiol. **14**, 253, 1914.

[3]) *A. Krogh*, Zeitschr. f. allgem. Physiol. **16**, 163 und 178, 1914.

auf chemische Vorgänge in Zellen nicht allgemein anwendbar ist. Insbesondere hat schon *A. Krogh* einige Fälle beschrieben, in denen die Geschwindigkeit des chemischen Umsatzes eine lineare Funktion der Temperatur ist.

II.

Warburg und *Ujesugi*[1]) haben gezeigt, daß die *Blackman*sche Reaktion sich gegenüber chemischen Einflüssen ähnlich verhält wie die Spaltung von Wasserstoffperoxyd in der Zelle. Bringt man Chlorellen in verdünnte Lösungen von Wasserstoffperoxyd, so zersetzen sie — im Dunkeln — das Peroxyd zu Wasser und Sauerstoff, ein Vorgang, der durch Blausäurekonzentrationen von n/200000 merklich gehemmt wird. Bei der gleichen Blausäurekonzentration — in Lösungen, die frei von Wasserstoffperoxyd sind — tritt eine Hemmung der *Blackman*schen Reaktion auf. Dieser und ähnliche Versuche sprechen zugunsten der Annahme, daß die *Blackman*sche Reaktion — was schon *Willstätter*[2]) vermutete — nichts anderes ist als die Spaltung eines bei der Kohlensäurereduktion gebildeten Peroxyds.

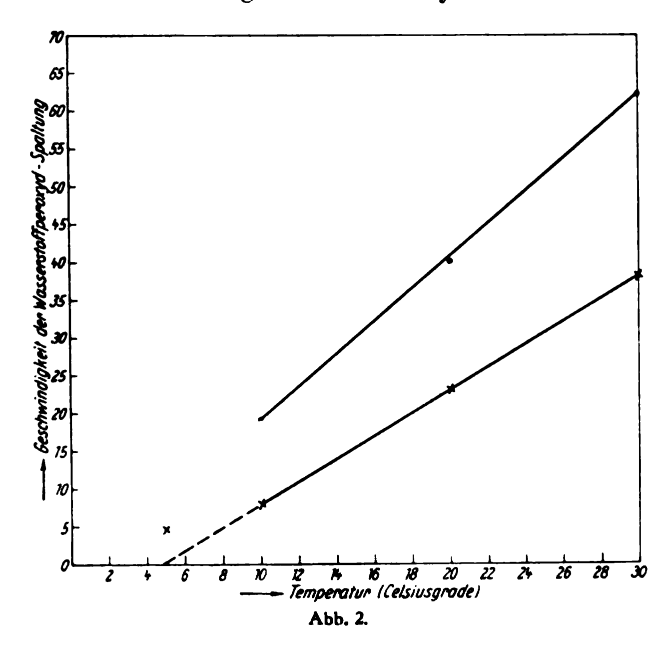


Abb. 2.

Um den Gedanken weiter zu verfolgen, habe ich den Einfluß der Temperatur auf die Peroxydspaltung geprüft. Die Chlorellen

[1]) *O. Warburg* und *T. Ujesugi*, diese Zeitschr. **146**, 486, 1924.
[2]) *Willstätter* und *Stoll*, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918.

befanden sich — bei Abschluß von Licht — in luftgesättigter *Knop*scher Lösung, das Wasserstoffperoxyd in einer Ansatzbirne des Meßtroges. Sofort nach dem Einkippen des Peroxyds begann die Druckmessung. die nach 15 Minuten immer beendet war. Die Konzentration des Wasserstoffperoxyds in der *Knop*schen Lösung war hierbei nach dem Einkippen m/300 und konnte während der Messung als konstant betrachtet werden.

Die Messungen lehrten, daß auch die Geschwindigkeit der Peroxydspaltung zwischen 10 und 30° eine lineare Funktion der Temperatur ist und weiterhin, daß auch hier beim Übergang zu tieferen Temperaturen Abweichungen von dem linearen Verlauf auftreten (Tabelle II und Abb. 2). In dieser Übereinstimmung erblicke ich ein neues Argument zugunsten der Annahme, daß die *Blackman*sche Reaktion eine Peroxydspaltung ist.

Tabelle II. Peroxydspaltung.

Temperatur	Versuch 1 4 mg Zellsubstanz. In 15 Min. entwickelter Sauerstoff	Versuch 2 3,6 mg Zellsubstanz. In 15 Min. entwickelter Sauerstoff
°C	cmm	cmm
5	4,5	—
10	7,8	19
20	23	40
30	38	62

III.

Die Form der Temperaturfunktion, die ich für die *Blackman*sche Reaktion und die Peroxydspaltung gefunden habe, ist zwar, wie erwähnt, in einigen Fällen schon von *A. Krogh* beobachtet worden, ist aber doch selten. Natürlich bedeutet die Ähnlichkeit der Temperaturfunktion in den beiden von mir beschriebenen Fällen um so mehr, je seltener diese Form der Funktion ist.

Ich habe außer der *Blackman*schen Reaktion und der Peroxydspaltung noch einige andere Vorgänge untersucht, die Atmung der roten Vogelblutzellen, die Atmung der Hefezellen, die Gärung der Hefezellen, die Gärung der Milchsäurebakterien, die Glykolyse der Carcinomzelle, die Leucinoxydation an Kohle, und habe in allen diesen Fällen keine lineare Temperaturfunktion gefunden, sondern ein Ansteigen des $\frac{dk}{d\vartheta}$ mit der Temperatur.

Besonders bemerkenswert erscheint es mir, daß die Atmung der Chlorella durch die Temperatur in ganz anderer Weise beeinflußt wird als die Peroxydspaltung und die *Blackman*sche Reaktion. Ein Beispiel

sei mitgeteilt (Tabelle III und Abb. 3), das zeigt, daß die Temperaturfunktion der Atmung keine gerade Linie ist, sondern daß wir hier das übliche Steigen des $\frac{dk}{d\vartheta}$ mit der Temperatur finden.

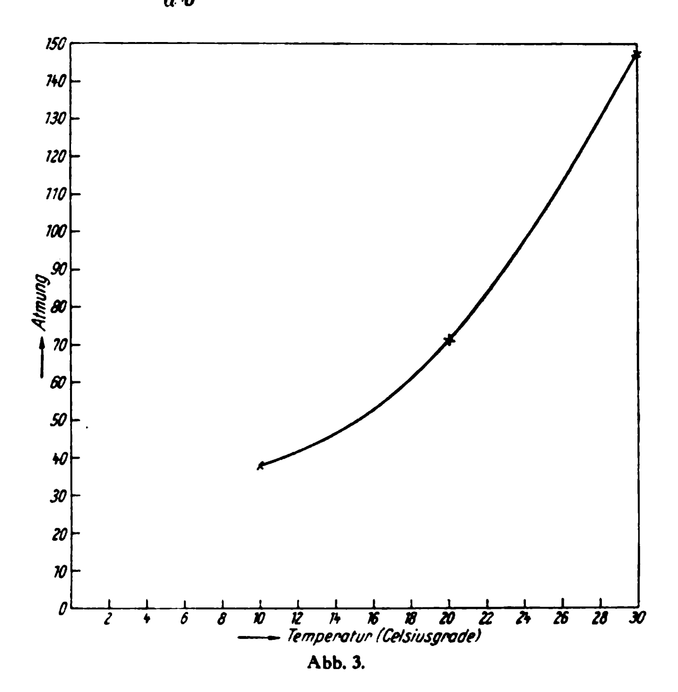


Abb. 3.

Tabelle III. Atmung.

Temperatur °C	20 mg Zellsubstanz. Pro Stunde verbrauchter Sauerstoff cmm
10	38
20	71
30	147

Eine Methode zur Bestimmung der Lipase in Körperflüssigkeiten und im Gewebe.

Von

P. Rona und **A. Lasnitzki.**

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts und dem Institut für Krebsforschung der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 2. Oktober 1924.)

(Mit 12 Abbildungen im Text.)

Bei ihren Untersuchungen über die glykolytischen Eigenschaften des normalen und Carcinomgewebes bedienten sich *Warburg* und *Minami*[1]) einer gasanalytischen Methode, die darin besteht, daß die bei der Glykolyse entstehende Milchsäure aus einer mit Bicarbonat angereicherten Ringerlösung eine äquivalente Menge Kohlensäure austreibt, die ihrerseits der Messung unterliegt. Das Gewebe selbst wurde in Form dünner Rasiermesserschnitte angewandt, die, an Glasnadeln befestigt, in der traubenzuckerhaltigen Ringerlösung flottierten. Der Gedanke lag nahe, diese Methodik, die ihrer Natur nach einen hohen Grad von Empfindlichkeit besitzt, andererseits die Möglichkeit darbietet, biologische Reaktionen im überlebenden Gewebe quantitativ zu verfolgen, für das Studium aller jener Fermentwirkungen anzuwenden, bei welchen im Verlauf des fermentativen Prozesses Säure abgespalten wird. Dies ist vor allem bei den fett- und esterspaltenden Fermenten der Fall.

Wir haben daher den Versuch unternommen, im Anschluß an die *Warburg*sche Methodik ein Verfahren auszuarbeiten, das erlaubt, die *Lipase*wirkung im überlebenden Gewebe quantitativ zu messen. Als Grundlage dienten uns dabei Versuche mit *Serum*lipase, da hier infolge

[1]) *Warburg* und *Minami*, diese Zeitschr. **142**, 317, 334, 1923; Klin. Wochenschr. Jahrg. 2, Nr. 17, 1923.

der gleichmäßigen Verteilung des Ferments offenbar einfachere Bedingungen gegeben sein mußten. Als Substrat benutzten wir bisher ausschließlich *Tributyrin*[1]).

Was die Methode im einzelnen anbetrifft, so entspricht sie in ihren wesentlichen Punkten der von *Warburg* beschriebenen. Zu Beginn der Versuche benutzten wir die folgende Anordnung, die wir später nach der apparativen Seite hin etwas modifiziert haben: Ein kleiner Glastrog von 1,5 bis 2 ccm Inhalt, auf dessen Boden drei feine Glasnadeln aufgeschmolzen sind, wird mit 0,4 ccm einer feinen Tributyrinemulsion beschickt, die durch kräftiges Anschütteln von 0,01 ccm Tributyrin mit 50 ccm Ringerlösung[2]) hergestellt ist[3]). Zu der Tributyrinemulsion fügt man 0,1 ccm einer mit Ringerlösung bereiteten Serumverdünnung oder, bei Versuchen mit Gewebsschnitten, die gleiche Menge Ringerlösung. Das verwendete Serum stammte fast ausschließlich von *Meerschweinchen* und wurde über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Die Gewebsschnitte wurden von den nach Tötung des Tieres herausgenommenen und gut entbluteten Organen mit Hilfe eines Rasiermessers angefertigt, möglichst rechteckig geschnitten und in einer Petrischale mit mehrmals gewechselter Ringerlösung vorgebadet. Nachdem ihre Flächenausdehnung durch Unterlegen von Millimeterpapier bestimmt war, wurden sie an den Glasnadeln der Tröge — je ein Schnitt pro Trog — befestigt, derart, daß sie vollständig von Flüssigkeit bedeckt waren. Ein großer Teil der bisher untersuchten Organe stammte von *Ratten*, denen ein *Flexner-Jobling*sches Carcinom implantiert worden war. Dieses wurde, wenn möglich, ebenfalls zum Versuch benutzt.

Für jeden Versuch dient ein Trog, der kein Tributyrin enthält, sonst aber in gleicher Weise hergerichtet ist, als Kontrolle. Da eine hydrolytische Zersetzung des Tributyrins bei der in Betracht kommenden H-Ionenkonzentration nicht erfolgt, wird von einer weiteren Kontrolle mit Tributyrinemulsion ohne Ferment abgesehen.

Die gefüllten Tröge werden mit Barcroftmanometern verbunden, welche *Brodie*sche Sperrflüssigkeit enthalten. Darauf wird in den über der Ringerlösung befindlichen Gasraum unter Schütteln ein Gemisch von 5 Vol.-Proz. Kohlensäure + 95 Vol.-Proz. Stickstoff eingeleitet. Während des Versuchs tauchen die Tröge in einen auf 37 oder 37,5° eingestellten Wasserthermostaten. Eine durch einen Motor angetriebene Schüttelvorrichtung (Tourenzahl 60 bis 80 pro Minute), in welche die Manometer eingesetzt werden, sorgt für gleichmäßiges Hin- und Herbewegen. Bis zum Beginn der Ablesungen wird 10 Minuten zwecks Temperaturausgleichs geschüttelt.

---

[1]) Vgl. auch die vorläufige Mitteilung in der Klin. Wochenschr. Jahrg. 3, Nr. 22, 1924.

[2]) Die Ringerlösung hatte einen erhöhten Gehalt an Natriumbicarbonat („Ringerlösung für Glykolyse" bei *Warburg*). Ihre Zusammensetzung war in allen hier mitgeteilten Versuchen: 100 ccm 9prom. NaCl- + 2 ccm 1,2proz. KCl- + 2 ccm 1,76proz. $CaCl_2$- (krist.) + 20 ccm 1,26proz. $NaHCO_3$-Lösung.

[3]) Eine *gesättigte* Tributyrinringerlösung anzuwenden, hielten wir von vornherein für nicht geeignet, da wegen der geringen Löslichkeit des Tributyrins die Substratkonzentration schon zu Beginn des Versuchs eine minimale sein würde.

Die in dem Kontrolltroge vor sich gehenden Prozesse beschränken sich — bei Ausschluß der Atmung — auf autolytische Vorgänge. Die hierbei auftretenden Säuren treiben aus dem Bicarbonat der Ringerlösung eine äquivalente, meist kleine Kohlensäuremenge aus. (Gelegentlich zu beobachtende negative Druckänderungen sind zweifellos auf Gasabsorption von seiten der Ringerlösung zurückzuführen.) In den anderen, Tributyrin enthaltenden Trögen gehen die gleichen Prozesse vor sich, außerdem aber die fermentative Spaltung des Tributyrins, bei welcher Glycerin und Buttersäure entsteht. Letztere treibt ebenfalls aus dem Bicarbonat der Ringerlösung eine äquivalente Menge Kohlensäure in den Gasraum. Die Messung der in den Trögen zu verschiedenen Zeiten entwickelten CO_2-Mengen geschieht durch Ermittlung der Druckerhöhung h bei konstantem Volumen, ausgedrückt in Millimetern *Brodie*. Daraus ergibt sich die CO_2-Menge in Kubikmillimetern (0°, 760 mm) durch Multiplikation mit der Gefäßkonstante für Kohlensäure:

$$K_{CO_2} = \frac{V_G \frac{273}{T} + V_F \cdot \alpha}{10000},$$

worin V_G das Volumen des Gasraumes bis zur Nullmarke, V_F das Volumen der eingefüllten Flüssigkeitsmenge, beide in Kubikmillimetern, T die absolute Temperatur und α den Absorptionskoeffizienten für Kohlensäure bei T^0 bedeuten. $V_G + V_F$ stellen das Gesamtvolumen V dar, das bei der Eichung der Gefäße bestimmt wird (vgl. Warburg, l. c.).

Die Kohlensäuremenge, welche durch die bei der Tributyrinspaltung entstehende Buttersäure ausgetrieben wird, erhält man durch Subtraktion der in dem Kontrolltroge entwickelten CO_2-Menge von der für die tributyrinhaltigen Tröge ermittelten, wobei die eventuell verschiedene Serumkonzentration bzw. bei Schnitten das verschiedene Gewicht derselben in Rechnung zu stellen ist. Für negative Druckänderungen der Kontrolle kommt nur die einfache Subtraktion ohne Berücksichtigung der Serumkonzentrationen und Schnittgewichte in Betracht[1]). — Um das Gewicht der Schnitte zu bestimmen, werden sie nach Beendigung des Versuchs aus den Trögen herausgenommen, mit destilliertem Wasser gut abgespült und bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Trockengewicht ergibt, mit 5 multipliziert, annähernd das Frischgewicht und das Volumen (vgl. *Warburg*, l. c.). Aus letzterem läßt sich, da die Fläche der Schnitte bekannt ist, ihre mittlere Dicke berechnen.

Aus der durch die Spaltung des Tributyrins freigewordenen Kohlensäure erhält man die gebildete Buttersäure in *Mikromolen*[2]) durch Division mit 22,4. Diese Werte sollen im folgenden als Maß der Tributyrinspaltung gelten. Der dritte Teil stellt die zersetzte Tributyrinmenge in Mikromolen dar, während der zehnte Teil die Buttersäuremenge in Milligrammen ergibt (Molekulargewicht der Buttersäure = 100). Für Gewebsschnitte werden alle Werte auf 1 mg Trockengewicht bezogen.

Das geschilderte Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat *vor* Beginn des Versuchs mit dem Ferment vereinigt wird. Die in dieser Weise erzielten Resultate ergeben sich aus den folgenden Beispielen:

---

[1]) Für Schnitte gilt dies natürlich nur bei Ausschluß der Atmung in Stickstoffatmosphäre.

[2]) 1 Mikromol = 0,001 Millimol.

Tabelle I. Meerschweinchenserum (1 Tag alt).
0,4 ccm Tributyrinemulsion in Ringer + 0,1 ccm Serumverdünnung.
Kontrolle ebenso ohne Tributyrin. Temperatur 37°.

Gefäß-konstanten: Kontr. 0,40; 1 : 50: 0,45; 1 : 250: 0,44	Serumverdünnung*)						
	1 : 50 (Kontrolle)	1 : 50			1 : 250		
Zeit Minuten	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	Gebildete *Buttersäure* Mikromole	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	Gebildete *Buttersäure* Mikromole
18	— 5,5	31,5	16,4	0,73	22,5	12,1	0,54
34	+ 1,5	52,0	22,8	1,02	40,0	17,5	0,78
55	+ 1,5	67,0	29,6	1,32	50,5	22,1	0,99
75	+ 3,5	76,0	32,8	1,46	58,5	25,4	1,13

Gefäß-konstanten: Kontr. 0,40; 1 : 100: 0,45; 1 : 500: 0,44	Serumverdünnung*)						
	1 : 100 (Kontrolle)	1 : 100			1 : 500		
Zeit Minuten	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	Gebildete *Buttersäure* Mikromole	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	Gebildete *Buttersäure* Mikromole
15	+ 5,0	35,5	14,0	0,63	15,0	6,2	0,28
35	+ 9,0	54,0	20,7	0,92	31,0	12,9	0,58
55	+ 10,0	68,5	26,8	1,20	43,0	18,1	0,81
75	+ 11,0	77,5	30,5	1,36	53,0	22,4	1,00

*) Das für die Serumverdünnung in den Tabellen angegebene Verhältnis bezieht sich auf die *Gesamt*verdünnung des Serums.

Wie aus Tabelle I und Abb. 1 ersichtlich, ist der zeitliche Verlauf der Tributyrinspaltung kein linearer. Es ergeben sich krummlinige Kurven, deren äußere Ähnlichkeit mit logarithmischen Kurven zwar auffallend

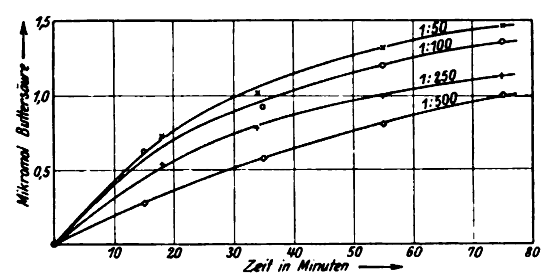


Abb. 1. Graphische Darstellung zu Tabelle I.

ist, die sich aber nicht als solche haben interpretieren lassen. Dies kann nicht wundernehmen, da der ganze Prozeß in einem makroheterogenen System abläuft. Auch gesetzmäßige Beziehungen zwischen Substratspaltung und Fermentkonzentration konnten nicht ermittelt werden. Bemerkenswert ist, daß der Verlauf der Kurven bei stärkerer Serumverdünnung sich immer mehr der Geradlinigkeit annähert.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei Versuchen mit Gewebsschnitten, welche wir nunmehr betrachten wollen.

Tabelle II. Carcinom (Ratte).

1. und 2. 0,4 ccm Tributyrinemulsion in Ringer + 0,1 ccm Ringerlösung + Schnitt. Kontrolle 0,5 ccm Ringerlösung + Schnitt. Schnittgewicht *): 1. 1,8 mg, 2. 2,5 mg, Kontrolle 2,7 mg. Fläche: 1. 26 qmm, 2. 62 qmm, Kontrolle 35 qmm. Dicke: 1. 0,35 mm, 2. 0,20 mm, Kontrolle 0,39 mm. Temperatur 37,5°.

Gefäßkonstanten: Kontr. 0,40; 1. 0,45; 2. 0,44	Kontr.	Schnitt 1				Schnitt 2			
Zeit Minuten	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	$\frac{CO_2}{mg\ Gewicht}$ cmm	$\frac{Buttersäure}{mg\ Gewicht}$ Mikrom.	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	$\frac{CO_2}{mg\ Gewicht}$ cmm	$\frac{Buttersäure}{mg\ Gewicht}$ Mikrom.
15	+ 1,0	19,5	8,5	4,7	0,21	24,5	10,4	4,0	0,18
34	0	41,5	18,7	10,4	0,46	53,5	23,5	9,4	0,42
52	+ 0,5	64,0	28,7	15,9	0,71	78,5	34,4	13,8	0,62
77	+ 1,0	90,5	40,5	22,5	1,00	109,5	47,8	19,1	0,85
105	+ 3,5	117,5	51,9	28,8	1,29	135,5	58,3	23,3	1,04

Tabelle III. Leber (Carcinom-Ratte).

1. und 2. 0,4 ccm Tributyrinemulsion in Ringer + 0,1 ccm Ringerlösung + Schnitt. Kontrolle 0,5 ccm Ringerlösung + Schnitt. Schnittgewicht: 1. 1,4 mg, 2. 3,3 mg, Kontrolle 1,8 mg. Fläche: 1. 31 qmm, 2. 62 qmm. Kontrolle 56 qmm. Dicke: 1. 0,23 mm, 2. 0,27 mm, Kontrolle 0,16 mm. Temperatur 37,5°.

Gefäßkonstanten: Kontr. 0,40; 1. 0,45; 2. 0,44	Kontr.	Schnitt 1				Schnitt 2			
Zeit Minuten	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	$\frac{CO_2}{mg\ Gewicht}$ cmm	$\frac{Buttersäure}{mg\ Gewicht}$ Mikrom.	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	$\frac{CO_2}{mg\ Gewicht}$ cmm	$\frac{Buttersäure}{mg\ Gewicht}$ Mikrom.
7	+ 2,0	42,0	18,3	13,1	0,58	51,5	21,2	6,4	0,29
15	+ 4,5	80,0	34,6	24,7	1,10	86,5	34,8	10,5	0,47
27	+ 7,0	114,0	49,1	35,1	1,57	108,5	42,6	12,9	0,58
40	+ 13,0	139,5	58,7	41,9	1,87	128,0	46,8	14,2	0,63
60	+ 15,5	154,0	64,5	46,1	2,06	141,5	50,9	15,4	0,69
75	+ 16,0	157,5	66,0	47,1	2,10	145,5	52,3	15,8	0,71

*) Als „Schnittgewicht" wird fortan das *Trockengewicht* eingesetzt.

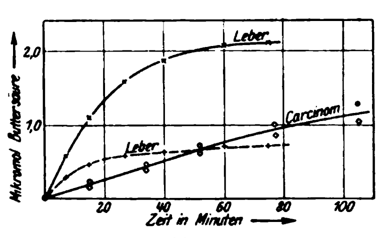


Abb. 2.
Graphische Darstellung zu Tabellen II und III.

Während die beiden Versuche mit Carcinomgewebe Werte ergeben, die sich, bezogen auf die Gewichtseinheit, namentlich im Beginn der Versuchszeit ziemlich genau entsprechen und im übrigen einen linearen Verlauf der Spaltung zu Anfang erkennen lassen, zeigen die beiden Versuche mit Lebergewebe große Differenzen und die unerwartete Erscheinung, daß

pro Milligramm Trockengewicht die Spaltung durch den größeren Schnitt (in der Abbildung gestrichelt) erheblich hinter der durch den kleineren Schnitt zurückbleibt. Den entsprechenden Befund erhielten wir auch beim Serum, wenn wir stärkere Konzentrationen anwandten als im vorigen Versuch. Dies ist nur so zu erklären, daß die größere Fermentmenge während der bis zu Beginn des Versuchs verstrichenen Zeit — etwa 15 Minuten — einen erheblichen Teil des Tributyrins bereits verbraucht hat, so daß die nun sichtbar werdende Spaltung nur noch mäßige Grade annehmen kann. Je geringer die Spaltung an und für sich ist (geringere Serumkonzentration, kleinere Leberschnitte, Carcinomschnitte), um so unwahrscheinlicher wird ein solches scheinbar paradoxes Verhalten sein.

Nach alledem schien das bisherige Verfahren für die Gewinnung quantitativ vergleichbarer Resultate wenig geeignet. Wir richteten nun unsere Aufmerksamkeit zunächst auf die Beseitigung des Übelstandes, daß die ersten Phasen der Tributyrinspaltung der Beobachtung entgehen, und begannen, die Versuchsanordnung dahin zu modifizieren, daß der Beginn der Spaltung mit dem Beginn der Versuchszeit zusammenfällt. Gerade die ersten Abschnitte der so zu erzielenden Kurven versprachen, für eine Vergleichsmöglichkeit von Bedeutung zu sein. Die Anordnung, die wir von nun an benutzten, ist in Abb. 3 wieder gegeben.

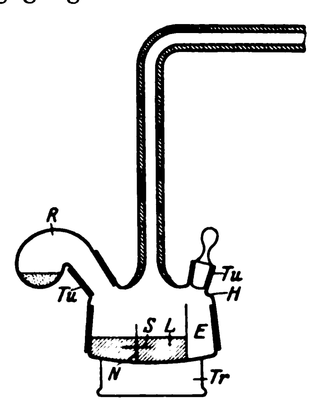


Abb. 3. *Tr* Trog. *L* Ringerlösung oder Serumverdünnung. *N* Glasnadel. *S* Gewebsschnitt. *E* Einsatz für Atmungsversuche (bleibt frei). *H* Helm des Manometers. *Tu* Tubus. *R* Retorte mit Tributyrinemulsion.

Hierbei wird die Tributyrinemulsion nicht sofort mit dem im Troge befindlichen Ferment (Serum, Gewebsschnitt) vereinigt, sondern zunächst in entsprechend stärkerer Konzentration in eine kleine Retorte[1]) eingefüllt, deren Hals in einen am Troge angebrachten Tubus eingesetzt werden kann. Der Trog hat größere Dimensionen und einen Inhalt von etwa 10 ccm. Er wird mit 2,7 ccm Serumverdünnung oder, bei Versuchen mit Gewebe, mit der gleichen Menge Ringerlösung beschickt. Der Schnitt ist ebenso wie vorher an einer Glasnadel befestigt. In die Retorte kommen 0,3 ccm einer Tributyrinemulsion, die 0,1 ccm Tributyrin auf 10 ccm Ringerlösung enthält. (Die Retorte des Kontrolltroges enthält 0,3 ccm Ringerlösung.) Nachdem die gefüllte Retorte mit dem Troge und dieser mit dem Helm des Barcroftmanometers verbunden ist, wird wie gewöhnlich Gas durchgeleitet. Dasselbe entweicht durch einen zweiten, etwas seitlich angebrachten und später

[1]) Die Anwendung der Retorte *R* bei gasanalytischen Untersuchungen ist unseres Wissens von Dr. *Szili* in Budapest (Inst. Tangl.) in Vorschlag gebracht worden.

durch einen Glasstopfen verschlossenen Tubus. Nun wird zwecks Temperaturausgleichs etwa 10 Minuten geschüttelt und darauf die Retorte nach oben umgedreht; die Tributyrinemulsion fließt in den Trog, und der Prozeß beginnt. Die Einstellung auf die Nullmarke und Ablesung des Manometerstandes wird sofort im Anschluß daran vorgenommen.

Die bei Anwendung dieses modifizierten Verfahrens anfangs erzielten Resultate mögen gleichfalls an einigen Beispielen erläutert werden. Zunächst bringen wir wieder eine Versuchsgruppe mit Meerschweinchenserum.

Tabelle IV.

Meerschweinchenserum (1 Tag alt).

1. 2,7 ccm Serumverdünnung in Ringer + 0,3 ccm Ringerlösung (Kontrolle).
2. 2,7 ccm Serumverdünnung in Ringer + 0,3 ccm Tributyrinemulsion in Ringer. Gefäßkonstanten: 1. 1,93; 2. 1,39. Temperatur 37,5°.

Zeit	1. Ringer *ohne* Trib. (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin			Zeit	1. Ringer *ohne* Trib. (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin		
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	Gebildete *Buttersäure* Mikrom.	Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	Gebildete *Buttersäure* Mikrom.
	Serumverdünnung 1 : 50					Serumverdünnung 1 : 100			
6	+ 3,5	52,5	66,2	2,96	6	+ 1,5	38,0	49,9	2,23
14	+ 2,0	81,0	108,7	4,85	15	+ 0,5	65,5	90,1	4,02
30	+ 5,0	112,5	146,8	6,55	30	+ 2,5	90,0	120,3	5,37
50	+ 5,0	132,0	173,9	7,76	45	+ 3,0	109,5	146,4	6,54
80	+ 6,5	144,0	187,7	8,38	75	+ 7,5	139,5	179,4	8,01
	Serumverdünnung 1 : 250					Serumverdünnung 1 : 500			
14	+ 2,5	40,5	51,5	2,30	18	+ 4,0	25,0	27,0	1,21
28	+ 4,0	71,5	91,7	4,09	36	+ 1,0	39,5	52,7	2,35
40	+ 3,0	85,5	113,0	5,04	55	+ 1,0	51,0	69,0	3,08
70	+ 4,0	108,0	142,4	6,36	78	+ 7,0	71,0	85,2	3,79

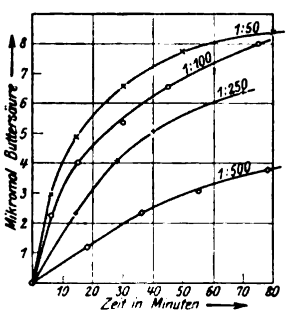


Abb. 4. Graphische Darstellung zu Tabelle IV.

Man ersieht aus Tabelle IV und namentlich aus Abb. 4, daß die Spaltung in den ersten 15 Minuten der Versuchszeit, die bei der früheren Anordnung in Fortfall kamen, einen besonders schnellen Verlauf nimmt. Dies gilt vor allem für die stärkeren Konzentrationen[1]) und fällt um so mehr ins Gewicht, wenn man den veränderten Maßstab des Diagramms berück-

[1]) Die der Verdünnung 1 : 500 entsprechende Kurve fällt aus dem Rahmen des Ganzen heraus, da das Serum bei Anstellung dieses Versuchs einen Tag älter war.

Tabelle V. Gewebe von *normalen* Tieren.

1. 3 ccm Ringerlösung + Schnitt (Kontrolle).
2. 2,7 ccm „ + „ + 0,3 ccm Tributyrinemulsion in Ringer.

Gefäßkonstanten: 1. 1,93; 2. 1,39. Temperatur: 37,5 °C.

Leber (norm. Ratte). Schnittgewicht: 1. 10,7 mg 2. 7,0 mg
Fläche: 114 qmm 91 qmm
Dicke: 0,47 mm 0,38 mm
Beginn des Versuchs etwa $1^1/_2$ Std. nach Tötung des Tieres.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin			
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	CO_2 / mg Gewicht cmm	*Buttersäure* / mg Gewicht Mikromole
10	+ 7,0	46,0	54,8	7,8	0,35
20	+ 15,0	89,5	104,9	15,0	0,67
30	+ 20,0	119,5	140,1	20,0	0,89
50	+ 30,0	154,5	175,8	25,1	1,12
75	+ 34,0	173,0	196,3	28,0	1,25

Niere (norm. Ratte). Schnittgewicht: 1. 4,0 mg 2. 2,4 mg
Fläche: 58 qmm 49 qmm
Dicke: 0,35 mm 0,34 mm
Beginn des Versuchs etwa 4 Std. nach Tötung des Tieres.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin			
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	CO_2 / mg Gewicht cmm	*Buttersäure* / mg Gewicht Mikromole
22	+ 6,0	31,5	36,6	15,3	0,68
40	+ 7,5	54,0	66,1	27,5	1,23
62	+ 7,5	85,5	109,8	45,8	2,04
78	+ 6,5	109,5	144,4	60,2	2,69

Niere (Meerschweinchen). Schnittgew.: 1. 5,5 mg 2. 5,3 mg
Fläche: 82 qmm 79 qmm
Dicke: 0,34 mm 0,34 mm
Beginn des Versuchs etwa $1^1/_4$ Std. nach Tötung des Tieres.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin			
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	CO_2 / mg Gewicht cmm	*Buttersäure* / mg Gewicht Mikromole
8	+ 3,0	49,0	62,4	11,8	0,53
16	+ 7,0	116,5	148,6	28,0	1,25
29	+ 7,0	169,0	221,6	41,8	1,87
40	+ 10,5	196,0	252,5	47,6	2,13
61	+ 13,0	217,5	277,6	52,4	2,34

Milz (normale Ratte). Schnittgewicht: 1. 3,4 mg 2, 4,0 mg
Fläche: 27 qmm 43 qmm
Dicke: 0,63 mm 0,47 mm
Beginn des Versuchs etwa 6 Std. nach Tötung des Tieres.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin			
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	CO_2 / mg Gewicht cmm	*Buttersäure* / mg Gewicht Mikromole
20	+ 3,5	20,0	19,8	5,0	0,22
40	+ 4,0	40,0	46,4	11,6	0,52
60	+ 5,0	59,5	71,2	17,8	0,79
80	+ 7,0	81,0	96,5	24,1	1,08

Tabelle VI. Gewebe von *Carcinom*-Ratten.

1. 3 ccm Ringerlösung + Schnitt (Kontrolle).
2. 2,7 ccm „ + „ + 0,3 ccm Tributyrinemulsion in Ringer.

Gefäßkonstanten: 1. 1,93; 2. 1,39. Temperatur: 37,5 °C.

Carcinom 1. (Vor 2 Monaten implantiert.)
Schnittgewicht: 1. 2,4 mg 2. 3,7 mg
Fläche: 85 qmm 96 qmm
Dicke: 0,14 mm 0,19 mm

Beginn des Versuchs etwa $1^3/_4$ Std. nach Tötung des Tieres.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin			
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	CO_2 / mg Gewicht cmm	*Buttersäure* / mg Gewicht Mikromole
20	+ 7,5	25,0	12,3	3,3	0,15
40	+ 5,0	40,5	41,3	11,2	0,50
65	+ 9,0	68,5	68,2	18,4	0,82
90	+ 11,0	91,5	94,2	25,5	1,14

Carcinom 2. (Vor 2 Monaten implantiert.) Je 2 Schnitte.
Schnittgewicht: 1. 5,4 mg 2. 3,2 mg
Fläche: 131 qmm 125 qmm
Dicke: 0,21 mm 0,13 mm

Beginn des Versuchs etwa $3^1/_2$ Std. nach Tötung des Tieres.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin			
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	CO_2 / mg Gewicht cmm	*Buttersäure* / mg Gewicht Mikromole
20	+ 3,0	20,0	24,5	7,7	0,34
40	+ 3,0	35,0	45,4	14,2	0,63
65	+ 2,0	55,5	74,9	23,4	1,04
95	— 1,0	70,0	99,2	31,0	1,38

Leber. Schnittgewicht: 1. 8,2 mg 2. 9,8 mg
Fläche: 87 qmm 90 qmm
Dicke: 0,47 mm 0,54 mm

Beginn des Versuchs etwa $6^1/_2$ Std. nach Tötung des Tieres.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin			
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	CO_2 / mg Gewicht cmm	*Buttersäure* / mg Gewicht Mikromole
7	+ 3,0	48,5	60,5	6,2	0,28
12	+ 4,5	84,5	107,1	10,9	0,49
21	+ 5,0	123,0	159,5	16,3	0,73
37	+ 10,0	167,0	209,1	21,3	0,95
58	+ 10,0	195,0	248,0	25,3	1,13

Niere. Schnittgewicht: 1. 3,9 mg 2. 5,5 mg
Fläche: 60 qmm 73 qmm
Dicke: 0,33 mm 0,38 mm

Beginn des Versuchs etwa $1^1/_2$ Std. nach Tötung des Tieres.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin			
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	CO_2 / mg Gewicht cmm	*Buttersäure* / mg Gewicht Mikromole
12	+ 2,5	32,5	38,4	7,0	0,31
29	+ 5,0	80,0	97,7	17,8	0,79
45	+ 2,0	116,0	155,8	28,3	1,26
61	+ 1,5	148,0	201,7	36,7	1,64
82	— 4,0	176,0	252,3	45,9	2,05

sichtigt. In der darauffolgenden Zeit nimmt die Intensität der Spaltung mehr oder weniger schnell ab. Die im Vergleich zu obigem Falle absolut größeren Ausschläge sind natürlich der größeren Ferment- und Substratmenge zuzuschreiben. — Bis zur Bildung von etwa 2,5 Mikromol Buttersäure kann der Verlauf der Spaltung bei allen angewandten Konzentrationen als linear betrachtet werden. Doch ist es weder hier noch bei ähnlichen Versuchen gelungen, in dem kurzen geradlinigen Bereich der Kurven gesetzmäßige Beziehungen zwischen Spaltungsgröße und Fermentkonzentration nachzuweisen.

Weit günstiger lagen die Verhältnisse bei den entsprechenden Versuchen mit Gewebsschnitten. Dieselben ergaben bei den meisten der untersuchten Gewebearten für eine hinreichend lange Versuchszeit einen linearen Verlauf der Tributyrinspaltung. Dies zeigen die folgenden

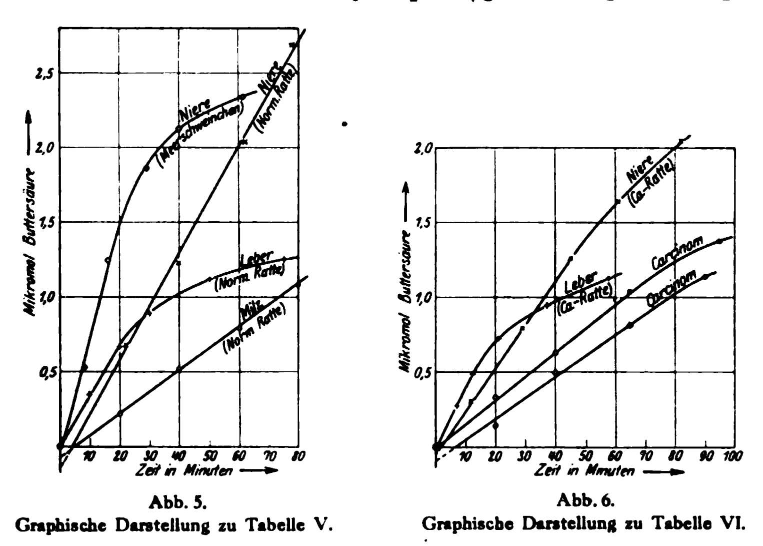


Abb. 5.
Graphische Darstellung zu Tabelle V.

Abb. 6.
Graphische Darstellung zu Tabelle VI.

Tabellen sowie die Abb. 5 und 6 an einigen Beispielen. Der in den Abbildungen dargestellte Spaltungsverlauf bezieht sich wiederum auf 1 mg Trockengewicht.

Ähnliche Kurven wie die hier dargestellten erhielten wir für Herz- und Lungengewebe, Skelettmuskulatur, Magenschleimhaut u. a. m.

Das einzige Gewebe, dessen Spaltungskurve schon nach relativ kurzer Zeit umbiegt, ist die Leber. Doch ist zu bedenken, daß die beiden hier zum Versuch benutzten Leberschnitte ziemlich groß waren, was bei einem an und für sich stark spaltenden Gewebe zu einer schnellen Abnahme der Tributyrinmenge führen muß. Wie die Tabellen zeigen, ist ja die Gesamtspaltung — gemessen an der ausgetriebenen CO_2-Menge — in den Versuchen mit Lebergewebe größer als in allen anderen Versuchen. Ferner beobachtet man die Erscheinung , daß die Verbindungslinie mehrerer geradlinig hintereinander liegender Kurven-

punkte zuweilen nicht den Anfangspunkt des Koordinatensystems schneidet, sondern die Abszisse in einem davor gelegenen Punkte. Dies bedeutet, daß die Spaltung erst eine gewisse Zeit nach Beginn des Versuchs in Erscheinung tritt, was auch direkt am Manometer beobachtet werden konnte. Das Verhalten, das auch in späteren Versuchen mit Serum hervortrat, findet wahrscheinlich seine Erklärung in der Annahme, daß zu Beginn der Versuchszeit die gesamte produzierte Kohlensäure in der Ringerlösung zurückgehalten wird, indem wahrscheinlich eine Übersättigung an Kohlensäure statthat.

Extrapoliert man unter Berücksichtigung dieses Umstandes sämtliche dargestellten Kurven im geradlinigen Bereich, so erhält man pro Milligramm Trockengewicht und *Stunde* folgende Mengen gebildeter Buttersäure:

Tabelle VII.

Gewebe	Buttersäure Mikromole	Gewebe	Buttersäure Mikromole
Leber (normale Ratte) .	2,04	Carcinom 1	0,84
Niere „ „ .	2,15	Carcinom 2	0,94
„ (Meerschweinchen)	4,32	Leber (Carcinom-Ratte)	2,40
Milz (normale Ratte) .	0,88	Niere „ „	1,74

Die Zusammenstellung zeigt, daß das Carcinomgewebe und die Milz weniger Tributyrin zu spalten vermögen als Leber und Niere. Auffallend ist ferner der etwa doppelt so große Spaltungswert der Meerschweinchenniere im Vergleich zu dem der normalen Rattenniere. Ein abschließendes Urteil über den Lipasegehalt der untersuchten Gewebearten zu fällen, ist auf Grund der wenigen Versuche noch nicht möglich, zumal gewisse Faktoren, wie der Einfluß der Schnittdicke, bisher noch keine genügende Berücksichtigung gefunden haben. Abgesehen davon, traten, wie die folgenden Bemerkungen zeigen, bei der weiteren Verfolgung der Versuche neue Schwierigkeiten auf.

Aus den Tabellen ist zu ersehen, daß bei sämtlichen nach der neuen Anordnung bis dahin ausgeführten Versuchen nur mit zwei Apparaten gearbeitet wurde, von denen der eine stets für die Kontrolle, der andere für den Versuch im engsten Sinne zur Verwendung kam. Als wir nun mit einer größeren Anzahl von Apparaten die Versuche in derselben Richtung fortsetzen wollten, gelangten wir sowohl bei Serum als bei Gewebsschnitten unter gleichen Versuchsbedingungen zu Werten, die mehr oder weniger stark, zuweilen erheblich voneinander abwichen. Dies lag, wie sich bald herausstellte, zu einem geringen Teil an einer nicht hinreichend genauen Bestimmung der Gefäßkonstanten. Doch war die Hauptursache eine andere. Wir hatten nämlich bei den bisherigen Versuchen die Voraussetzung gemacht, daß der Tributyringehalt der Ringerlösung, den wir anwandten. relativ zur Fermentkonzentration stets als ein *unendlich großer* zu betrachten sei, so daß eine Abhängigkeit des fermentativen Prozesses von der Substratkonzentration nicht mehr besteht. Die stetig abnehmende Geschwindigkeit

der Spaltung, die schon im vorangehenden andeutungsweise der Tributyrinverarmung der Ringerlösung zugeschrieben wurde, führten wir ursprünglich auf sekundäre Faktoren, wie Säurewirkung infolge der Erhöhung der H-Ionenkonzentration, zurück. Diese Voraussetzung ließen wir jetzt fallen und gelangten so zu einer Erklärung für unsere abweichenden Resultate. Denn war der Tributyringehalt der Ringerlösung noch kein unendlich großer in dem bezeichneten Sinne, so konnten Schwankungen der Tributyrinmenge zu Unterschieden in der Größe der fermentativen Spaltung führen. Solche Schwankungen kommen aber sicher vor. Andererseits war zu erwarten, daß bei Vermehrung der Tributyrinmenge ein Ausgleich der bisherigen Differenzen herbeigeführt werden konnte. Wir haben daher in den folgenden Versuchen den Tributyringehalt der Ringerlösung noch um das Zehnfache erhöht, indem wir in die Retorte 0,3 ccm einer Tributyrinemulsion einfüllten, die durch Anschütteln von 0,5 ccm Tributyrin mit 4,5 ccm Ringerlösung gewonnen war. Nach dem Einfließen in den Trog ergab sich also ein Tributyringehalt von 1 Proz. gegenüber 0,1 Proz. bei den früheren Versuchen. Der folgende Versuch, der mit zwei verschiedenen Gefäßen bei gleicher Serumkonzentration angestellt wurde, läßt erkennen, daß eine befriedigende Übereinstimmung erzielt ist. Die noch bestehenden Unterschiede von im Mittel 4,9 Proz. werden, da sie einseitig sind, neben zufälligen Versuchsfehlern einer Ungenauigkeit der Gefäßkonstanten zuzuschreiben sein.

Tabelle VIII.

Meerschweinchenserum (2 Tage alt).

1. 2,7 ccm Serumverdünnung in Ringer + 0,3 ccm Ringerlösung (Kontrolle).
2. 2,7 ccm Serumverdünnung in Ringer + 0,3 ccm Tributyrinemulsion in Ringer. Temperatur: 37,5 °C.

Serumverdünnung: 1 : 200.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin					
	Gefäß Nr. 10 (Konstante: 1,79)	Gefäß Nr. 2 (Konstante: 1,55)			Gefäß Nr. 4 (Konstante: 1,54)		
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	Gebildete *Buttersäure* Mikromole	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	Gebildete *Buttersäure* Mikromole
13	+ 5,0	27,5	33,6	1,50	30,0	37,2	1,66
25	+ 9,5	66,0	85,3	3,81	68,0	87,7	3,92
37	+ 9,5	102,0	141,1	6,30	107,0	147,8	6,60
50	+ 9,0	147,5	212,5	9,49	152,0	218,0	9,73

Bei dieser Versuchsanordnung ergab sich nun für die ganze Dauer der Versuchszeit ein *linearer* Verlauf der Tributyrinspaltung, was bei konstant „unendlich hoher“ Substratkonzentration unter sonst gleichbleibenden Bedingungen zu erwarten war. Hiermit findet auch die Tatsache ihre Erklärung, daß die Versuche mit Gewebsschnitten bei der zweiten Anordnung gegenüber der ersten einen mehr geradlinigen Verlauf der Spaltung gezeigt hatten, unabhängig von dem Fortfall der „toten“ Zeit. Denn, obgleich der relative Gehalt an Tributyrin

in beiden Fällen nur wenig verschieden war, war doch die absolute Menge bei dem sechsfachen Volumen Ringerlösung in der zweiten Anordnung wesentlich größer. Für Serum mußte dies wegen seiner an sich größeren Spaltung in den angewandten Verdünnungen ohne merklichen Einfluß sein.

Im folgenden bringen wir drei Reihen von Versuchen mit Meerschweinchenserum, die unter Anwendung von 1 proz. Tributyrinemulsion angestellt worden sind. Jeder Einzelversuch wurde, abgesehen von der Kontrolle, mit zwei Gefäßen ausgeführt, wobei die Ablesungen zu verschiedenen Zeiten erfolgten. Wie die Abb. 7, 9 und 11 dartun, ist die Übereinstimmung meist eine gute. Nur zuweilen macht sich eine größere Streuung bemerkbar. Auch hier kommt vielfach ein verspätetes Sichtbarwerden der Spaltung zum Ausdruck. Liest man, wieder unter Berücksichtigung dieses Umstandes, aus den graphischen Darstellungen für einen bestimmten Umsatz, z. B. den, der der Bildung von 6 Mikromol Buttersäure entspricht, die den einzelnen Serumverdünnungen entsprechenden Zeiten ab und bildet man deren reziproke Werte, so ergibt sich, daß dieselben mit befriedigender Annäherung den Fermentkonzentrationen proportional sind (Abb. 8, 10 und 12). *Demnach verhalten sich die Zeiten gleichen Umsatzes umgekehrt wie die Fermentmengen.*

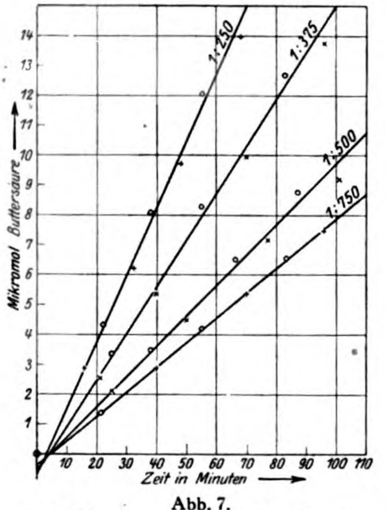


Abb. 7.

Gefäß Nr. 1 2 3 4
Zeichen . . . . × + ○ ◊

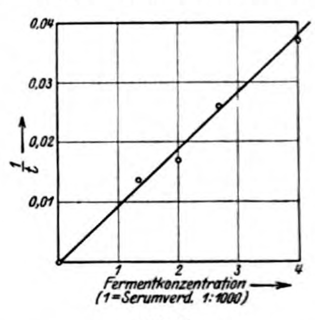


Abb. 8.
Reziproke Zeitwerte für 6 Mikromol Buttersäure, abgelesen aus Abb. 7.

In der vorliegenden Form ist also die Methode ein gut brauchbares Verfahren zum Studium von Lipasewirkungen. Der beim Umdrehen der Retorte in derselben zurückbleibende kleine Rest verursacht bei Serumversuchen nur einen Verdünnungsfehler von etwa 1 Proz. Was die Änderung der *Wasserstoffionenkonzentration* anbetrifft, so ist dieselbe ziemlich gering. Dies zeigt u. a. das folgende Beispiel:

Tabelle IX. (Abb. 7 und 8.)

Meerschweinchenserum (3 Tage alt).

1. 2,7 ccm Serumverdünnung in Ringer + 0,3 ccm Ringerlösung (Kontrolle).
2. 2,7 ccm Serumverdünnung in Ringer + 0,3 ccm Tributyrinemulsion in Ringer.

Temperatur: 37,5° C.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin					
	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2	Gebildete *Buttersäure*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2	Gebildete *Buttersäure*
Min.			cmm	Mikromole		cmm	Mikromole
Serumverdünnung: 1: 250.							
	Gefäß Nr. 8 (Konstante: 1,48)	Gefäß Nr. 2 (Konstante: 1,55)			Gefäß Nr. 4 (Konstante: 1,54)		
16	+ 0,5	42,0	64,4	2,88			
22	+ 1,5				64,5	97,1	4,33
32	+ 2,0	91,5	138,8	6,20			
38	+ 5,0				122,5	181,3	8,09
48	+ 5,0	145,0	217,4	9,71			
55	+ 5,5				181,0	270,6	12,08
68	+ 6,5	208,0	312,8	13,96			
Serumverdünnung: 1: 375.							
	Gefäß Nr. 5 (Konstante: 1,39)	Gefäß Nr. 1 (Konstante: 1,46)			Gefäß Nr. 3 (Konstante: 1,54)		
21	+ 3,5	42,0	56,4	2,52			
25	+ 3,0				51,0	74,3	3,32
40	+ 4,0	86,0	120,0	5,36			
55	+ 5,0				125,0	185,5	8,28
70	+ 6,0	158,0	222,3	9,92			
83	+ 7,0				190,5	283,6	12,66
96	+ 7,5	218,0	307,8	13,74			
Serumverdünnung: 1: 500.							
	Gefäß Nr. 5 (Konstante: 1,39)	Gefäß Nr. 1 (Konstante: 1,46)			Gefäß Nr. 3 (Konstante: 1,54)		
25	+ 1,0	33,5	47,5	2,12			
38	+ 5,0				54,5	77,0	3,44
50	+ 5,0	73,5	100,4	4,48			
66	+ 6,0				100,0	145,7	6,50
77	+ 8,5	118,0	160,5	7,17			
87	+ 9,5				135,5	196,2	8,76
101	+ 9,5	149,5	205,8	9,19			
Serumverdünnung: 1: 750.							
	Gefäß Nr. 8 (Konstante: 1,48)	Gefäß Nr. 2 (Konstante: 1,55)			Gefäß Nr. 4 (Konstante: 1,54)		
21	+ 2,5				22,5	31,0	1,38
40	+ 3,0	44,5	64,6	2,88			
55	+ 5,5				66,5	94,3	4,21
70	+ 5,0	82,0	119,7	5,34			
83	+ 6,0				101,5	147,4	6,58
96	+ 6,5	114,0	167,1	7,46			

Tabelle X. (Abb. 9 und 10.)

Meerschweinchenserum (3 Tage alt).

1. 2,7 ccm Serumverdünnung in Ringer + 0,3 ccm Ringerlösung (Kontrolle).
2. 2,7 ccm Serumverdünnung in Ringer + 0,3 ccm Tributyrinemulsion in Ringer.

Temperatur: 37,5° C.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin					
Min.	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	Gebildete *Buttersäure* Mikromole	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2 cmm	Gebildete *Buttersäure* Mikromole
		Serumverdünnung: 1:125.					
	Gefäß Nr. 6 (Konstante: 1,93)	Gefäß Nr. 2 (Konstante: 1,55)			Gefäß Nr. 3 (Konstante: 1,54)		
13	+ 5,0	57,0	78,7	3,51			
22	+ 7,0	→			87,5	121,3	5,42
28	+ 7,5	135,0	194,8	8,70			
40	+ 9,0	→			172,0	247,5	11,05
50	+ 9,0	245,0	362,4	16,18			
52	+ 10,5	→			225,0	326,2	14,56
		Serumverdünnung: 1:250.					
	Gefäß Nr. 10 (Konstante: 1,79)	Gefäß Nr. 4 (Konstante: 1,54)			Gefäß Nr. 8 (Konstante: 1,48)		
25	— 1,0	53,0	83,4	3,72			
32	— 0,5	→			69,5	103,8	4,63
52	+ 2,0	123,5	186,6	8,33			
62	+ 3,0	→			148,5	214,4	9,57
78	+ 2,0	191,0	290,5	12,97			
99	+ 1,0	→			237,5	349,7	15,61
		Serumverdünnung: 1:500.					
	Gefäß Nr. 10 (Konstante: 1,79)	Gefäß Nr. 2 (Konstante: 1,55)			Gefäß Nr. 8 (Konstante: 1,48)		
32	— 4,5	37,5	66,2	2,96			
40	— 3,0	→			49,0	77,9	3,48
64	— 3,0	81,0	131,0	5,85			
77	— 3,5	→			98,0	151,3	6,75
102	— 7,0	128,5	211,7	9,45			
115	— 8,0	→			140,5	222,2	9,92
		Serumverdünnung: 1:1000.					
	Gefäß Nr. 6 (Konstante: 1,93)	Gefäß Nr. 3 (Konstante: 1,54)			Gefäß Nr. 4 (Konstante: 1,54)		
50	— 2,0	29,5	49,3	2,20			
62	— 1,0	→			38,5	61,2	2,73
84	— 4,0	52,5	88,6	3,96			
100	— 4,0	→			58,2	97,8	4,37
117	— 5,0	72,5	121,4	5,42			
129	— 8,5	→			73,5	129,6	5,79

Tabelle XI. (Abb. 11 und 12).

Meerschweinchenserum (1 Tag alt).

1. 2,7 ccm Serumverdünnung in Ringer + 0,3 ccm Ringerlösung (Kontrolle).
2. 2,7 ccm Serumverdünnung in Ringer + 0,3 ccm Tributyrinemulsion in Ringer.

Temperatur: 37,5° C.

Zeit	1. Ringer *ohne* Tributyrin (Kontrolle)	2. Ringer *mit* Tributyrin					
	Druckänderung in mm *Brodie*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2	Gebildete *Buttersäure*	Druckerhöhung in mm *Brodie*	CO_2	Gebildete *Buttersäure*
Min.			cmm	Mikromole		cmm	Mikromole
Serumverdünnung: 1:125.							
	Gefäß Nr. 5 (Konstante: 1,39)	Gefäß Nr. 1 (Konstante: 1,39)			Gefäß Nr. 3 (Konstante: 1,54)		
14	+ 2,5	→			106,5	160,5	7,17
17	+ 3,0	135,5	184,1	8,22			
25	+ 2,5	→			193,0	293,7	13,11
28	+ 3,5	222,5	304,4	13,59			
35	+ 5,0	→			271,0	410,3	18,32
42	+ 5,5	321,0	438,5	19,58			
Serumverdünnung: 1:250.							
	Gefäß Nr. 6 (Konstante: 1,93)	Gefäß Nr. 4 (Konstante: 1,54)			Gefäß Nr. 8 (Konstante: 1,48)		
19	+ 2,5	→			76,0	107,7	4,70
22	+ 2,5	91,0	135,3	6,04			
33	+ 3,0	→			139,0	199,9	8,92
38	+ 2,5	161,0	243,1	10,85			
51	+ 4,5	→			213,0	306,5	13,68
59	+ 3,0	250,5	380,0	16,96			
Serumverdünnung: 1:500.							
	Gefäß Nr. 5 (Konstante: 1,39)	Gefäß Nr. 8 (Konstante: 1,48)			Gefäß Nr. 10 (Konstante: 1,79)		
25	+ 3,5	→			44,0	73,9	3,30
31	+ 4,0	64,5	89,9	4,01			
45	+ 4,0	→			81,5	140,3	6,26
52	+ 5,0	110,0	155,8	6,96			
68	+ 4,5	→			118,0	204,9	9,15
89	+ 2,5	189,0	276,2	12,33			
Serumverdünnung: 1:1000.							
	Gefäß Nr. 6 (Konstante: 1,93)	Gefäß Nr. 1 (Konstante: 1,39)			Gefäß Nr. 7 (Konstante: 1,41)		
32	+ 3,0	33,0	40,1	1,79			
40	+ 4,5	→			39,0	46,3	2,07
62	+ 6,0	69,0	84,3	3,76			
80	+ 6,5	→			77,0	96,0	4,29
102	+ 5,0	110,0	143,2	6,39			
123	+ 6,0	→			116,0	152,0	6,79

Das p_H einer mit Ringerlösung im Verhältnis 1 : 250 hergestellten Serumverdünnung betrug 8,0, gemessen nach der Indikatorenmethode (p_H der Ringerlösung selbst etwa 8,1). Nach Sättigung mit dem Kohlensäure-Stickstoffgemisch sank dasselbe auf 7,7. Setzt man die Dissoziationskonstante der Kohlensäure gleich $4 . 10^{-7}$, so ergibt eine einfache Rechnung, daß das Verhältnis $\frac{[CO_2]}{[NaHCO_3]}$, das die H-Ionenkonzentration bestimmt, gleich $^1/_{20}$ ist, d. h. es kommen auf 1 Teil freier

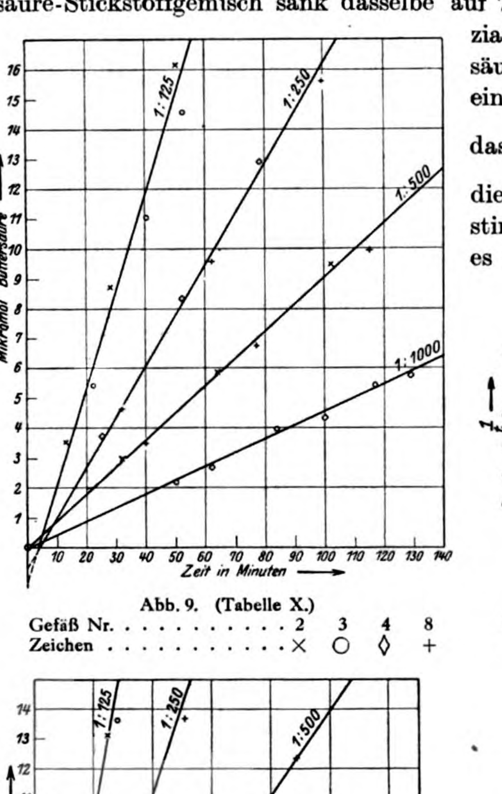


Abb. 9. (Tabelle X.)

Gefäß Nr. 2 3 4 8
Zeichen . . . . × ○ ◊ +

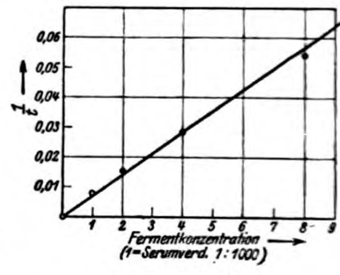


Abb. 10.
Reziproke Zeitwerte für 6 Millimol Buttersäure, abgelesen aus Abb. 9.

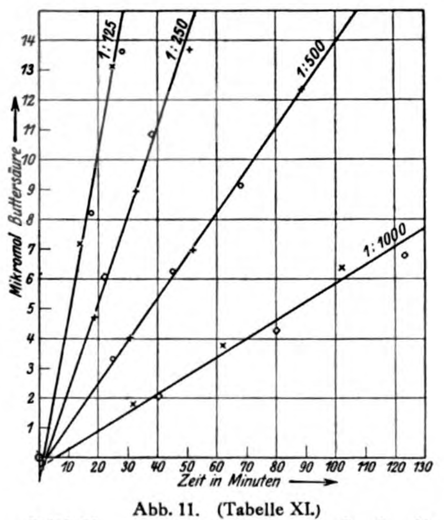


Abb. 11. (Tabelle XI.)

Gefäß Nr. 1 3 4 7 8 10
Zeichen . . . . ○/× × ◊ ◊ + ○

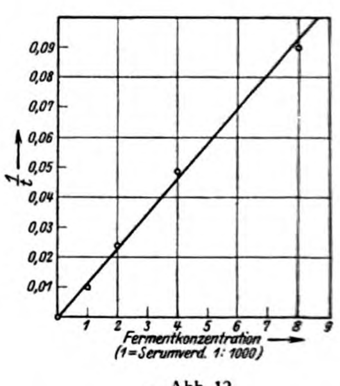


Abb. 12.
Reziproke Zeitwerte für 6 Millimol Buttersäure, abgelesen aus Abb. 11

Kohlensäure 20 Teile an Bicarbonat gebundene. Mit der Serumverdünnung wurde nun ein Versuch in der zuletzt beschriebenen Weise angesetzt. Nach 80 Minuten Versuchszeit ergab sich bei einer Druckerhöhung von 288 mm *Brodie* und einer Gefäßkonstanten von 1,41 eine CO_2-Entwicklung von 406,1 mg = 18,13 Mikromol. Nun enthalten die im Troge befindlichen 3 ccm Ringerlösung zu Beginn des Versuchs 6,1 mg $NaHCO_3$ = 73 Mikromol. Die ausgetriebene CO_2-Menge beträgt demnach rund ein Viertel der verfügbaren, und dieses Verhältnis entspricht, wie ein Blick auf die letzten Tabellen zeigt, etwa den maximal erreichten Werten. Von 20 Teilen Bicarbonat werden also nach Beendigung des Versuchs nur noch 15 Teile zurückgeblieben sein. Von den übrigen 5 Teilen, die nunmehr als freie Kohlensäure vorhanden sind, entweicht die Hauptmenge in den Gasraum, während ein kleiner Anteil in der Ringerlösung verbleibt. Diesen erhält man in Milligrammen durch Multiplikation der beobachteten Druckerhöhung mit der Konstante $\frac{V_F \cdot \alpha}{10000}$, die ein Bestandteil der Gefäßkonstante ist. Sie beträgt 0,168. Von 406,1 mg entwickelter Kohlensäure sind mithin 288 . 0,168 = 48,5 mg in der Ringerlösung enthalten, das sind 0,6 Teile auf 5 Teile. Das Verhältnis $\frac{[CO_2]}{[NaHCO_3]}$ ist also von 1 : 20 auf 1,6 : 15 verschoben. Daraus ergibt sich ein p_H von 7,33. Gemessen wurde unmittelbar nach Beendigung des Versuchs ein p_H von 7,4, während die Kontrolle den alten Wert ergab. Gefundenes und berechnetes Ergebnis zeigen also übereinstimmend nur eine geringe Verschiebung der H-Ionenkonzentration an, die für die Wirksamkeit des Ferments offenbar ohne Belang ist.

Aus den Erfahrungen der letzten Versuche kann der Schluß gezogen werden, daß, solange der Tributyringehalt der Ringerlösung relativ zur vorhandenen Fermentmenge eine gewisse Grenze nicht unterschreitet, der Verlauf der Spaltung ein linearer und die Geschwindigkeit, mit der sie erfolgt, ausschließlich eine Funktion der Fermentkonzentration ist[1]). Abweichungen vom geradlinigen Verlauf entstehen, wenn die Substratmenge unter jene Grenze herabsinkt. Mit Gewebsschnitten sind bei erhöhter Tributyrinmenge erst ein paar orientierende Versuche angestellt worden, die gleichfalls einen linearen Verlauf der Spaltung während der ganzen Dauer der Versuchszeit ergeben haben. Ist die obige Auffassung auch hier zutreffend, so müßten die dabei zu erzielenden Spaltungsgrößen mit denen übereinstimmen, die wir in vorangehenden Versuchen durch Extrapolation

---

[1]) Vgl. hierzu die Überlegungen von *Sv. Arrhenius*, Zeitschr. angew. Ch. **36**, 455, 1923.

im geradlinigen Bereich ermittelt haben. Immerhin ist die Möglichkeit gegeben, daß bei Gewebsschnitten die Verhältnisse komplizierter liegen als beim Serum. Die Resultate unserer diesbezüglichen Untersuchungen sollen Gegenstand einer folgenden Arbeit sein.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode ausgearbeitet, welche erlaubt, die Wirkung der Lipase im überlebenden Gewebe quantitativ zu verfolgen. Das Verfahren knüpft an die von *Warburg* eingeführte, dem Studium der Glykolyse im überlebenden Gewebe dienende Methodik an und beruht wie diese auf der Messung der Kohlensäuremenge, welche durch die bei dem Prozeß entstehende Säure aus einer mit Natriumbicarbonat angereicherten Ringerlösung ausgetrieben wird. Das Substrat ist Tributyrin und kommt in Form einer mit Ringerlösung bereiteten Emulsion zur Verwendung. Als Grundlage dienen Versuche mit Serumlipase.

2. Die Versuche mit überlebendem Gewebe selbst haben zunächst nur einen orientierenden Charakter. Dagegen ergaben die Versuche mit Serum (bis zu einer Verdünnung 1 : 1000 bzw. einer Serummenge von 0,003 ccm) bei genügend großer Substratmenge während der ganzen Dauer der Versuchszeit (etwa 2 Stunden) einen linearen Verlauf der Tributyrinspaltung. Die Zeiten gleichen Umsatzes verhielten sich mit befriedigender Annäherung umgekehrt wie die Fermentkonzentrationen.

Bei der Ausführung der Versuche hat uns Frl. *F. Strelitz* wertvolle Hilfe geleistet.

Nachtrag

zu der Arbeit von *F. Verzár* und *B. Vásárhelyi*.
(Diese Zeitschr. **151**, 246, 1924):

„In ähnlicher Weise hat *N. Kensigton Adam* (Biochem. Journ. **14**, 679, 1920) den Barcroft-Kompensations-Blutgasapparat nach dem *Winterstein*schen Prinzip modifiziert und zur Bestimmung des O_2-Verbrauches von Froschmuskeln empfohlen."

Autorenverzeichnis.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.

Hierzu eine Beilage von Carl Winters Universitätsbuchhandlung in Heidelberg

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn Akt.-Ges. in Braunschweig

